

ARCHIVES

DES SCIENCES BIOLOGIQUES

PUBLIÉES PAR

L'INSTITUT IMPÉRIAL

DE MÉDECINE EXPÉRIMENTALE

À PETROGRAD.

Tome XIX.



PETROGRAD.
1916.



Imprimé par ordre de l'Institut Impériale de médecine expérimentale.
Septembre 1916. W. Omeliansky, Rédacteur en chef intérimaire.

Imprimerie C. MATTIESEN, Jurieff (Liv.).

Table des matières.

Pag.

Contribution à l'étude du sphincter prépylorique (préantral). Par L. A. Orbéli et G. P. Khosroïev 1

La généralisation initiale et la spécialisation consécutive des excitants conditionnels cutanés. Par P. Koupalov 21

Sur les protamines de la laitance de l'esturgeon russe. Par P. Glagolev . . 59

2,5-Dicétopipérazines et la détermination des groupes à NH_2 d'après Sörensen. Par P. Glagolev 86

Au problème de l'influence de la pression atmosphérique augmentée sur la composition du sang. Par A. Goustcha (Petrograd) 91

Sur une nouvelle moisissure du genre Penicillium produisant un pigment. (Avec une figure dans le texte et une planche.) Par M-me O. Grigoriev-Manoïlov et M-elle O. Poradélov 117

Les vaccinations antirabiques à Petrograd. Rapport annuel du Service Antirabique de l'Institut Impérial de Médecine Expérimentale pour l'année 1914. Par V. Ouchakoff 132

La réaction du tryptophane et son application en bactériologie. Par M-me N. Pérépélitzyn 139

Contribution à la physiologie du pancréas. Par L. A. Orbéli et K. M. Bykov 152

Sur la physiologie et la biologie des bactéries fixant l'azote. Article premier. (Avec 3 figures dans le texte et une planche.) Par V. Omeliansky . . 162

Sur la physiologie et la biologie des bactéries fixant l'azote. Article deuxième. Clostridium Pasteurianum. Par V. Omeliansky 209

Recherches sur les ferments du sérum et des organes des animaux auxquels on a introduit des parties composantes du bacille tuberculeux, des produits d'hydrolyse de ce bacille et aussi des bacilles tuberculeux vivants. Par M-mes A. Borissiak et N. Sieber-Schoumow 229

Travaux de la Commission pour l'étude de la peste dans le Sud-Est de la Russie. Rapport de la mission du village de Zavetnoïe. Par M-lle O. Aristarkhowa et M. S. Souvoroff 273

Travaux de la Commission pour l'étude de la peste dans le Sud-Est de la Russie. Rapport du Laboratoire de Djambeita de la province d'Ouralsk. (Avec 7 figures dans le texte.) Par G. Koltzov 301

Sur l'influence de la rœntgenisation des testicules sur la prostate. Recherches expérimentales par M. Nemenov 327

Table alphabétique par noms d'auteurs.

Pag.

Aristarkhowa, O. et **Souvoroff, M. S.** Travaux de la Commission pour l'étude de la peste dans le Sud-Est de la Russie. Rapport de la mission du village de Zavetnoïé 273

Borissiak, A. et **Sieber-Schoumow, N.** Recherches sur les ferments du serum et des organes des animaux auxquels on a introduit des parties composantes du bacille tuberculeux, des produits d'hydrolyse de ce bacille et aussi des bacilles tuberculeux vivants 229

Bykov, K. M. — v. Orbéli et Bykov 152

Glagolev, P. 2,5-Dicétopipérazines et la détermination des groupes à NH_2 d'après Sörensen 86

Glagolev, P. Sur les protamines de la laitance de l'esturgeon russe 59

Goustcha, A. Au problème de l'influence de la pression atmosphérique augmentée sur la composition du sang 91

Grigoriev-Manoïlov, O. et **Poradélov, O.** Sur une nouvelle moisissure du genre Penicillium produisant un pigment. (Avec une figure dans le texte et une planche) 117

Khosroïev, G. P. — v. Orbéli et Khosroïev 1

Koltzov, G. Travaux de la Commission pour l'étude de la peste dans le Sud-Est de la Russie. Rapport du Laboratoire de Djambeita de la province d'Ouralsk. (Avec 7 figures dans le texte) 301

Koupalov, P. La généralisation initiale et la spécialisation consécutive des excitants conditionnels cutanés 21

Nemenov, M. Sur l'influence de la rœntgenisation des testicules sur la prostate. Recherches expérimentales 327

Omeliansky, V. Sur la physiologie et la biologie de bactéries fixant l'azote. Article premier. (Avec 3 figures dans le texte et une planche) 162

Omeliansky, V. Sur la physiologie et la biologie des bactéries fixant l'azote. Article deuxième. Clostridium Pasteurianum 209

Orbéli, L. A. et **Bykov, K. M.** Contribution à la physiologie du pancréas 152

Orbéli, L. A. et **Khosroïev, G. P.** Contribution à l'étude du sphincter prépylorique (préantral) 1

Ouchakoff, V. Les vaccinations antirabiques à Petrograd. Rapport annuel du Service Antirabique de l'Institut Impérial de Médecine Expérimentale pour l'année 1914 132

Pérépélitzyn, N. La réaction du tryptophane et son application en bactériologie . 139

Poradélov, O. — v. Grigoriev-Manoïlov et Poradélov 117

Sieber-Schoumow, N. — v. Borissiak et Sieber-Schoumow 229

Souvoroff, M. S. — v. Aristarkhowa et Souvoroff 273

Ce phénomène est d'un intérêt particulier, si l'on prend en considération, comme l'a fait remarquer Schemiakine, que le fondus et la région pylorique présentent des différences considérables en ce qui concerne leur structure, leurs propriétés, le rôle de la matière qu'elles sécrètent et la manière dont elles se comportent vis-à-vis des excitants chimiques et mécaniques; sous ce rapport il est important d'avoir des données plus ou moins détaillées et exactes concernant les conditions du travail du sphincter prépylorique, d'élucider le lien qui existe entre le passage des aliments d'une partie dans l'autre, d'un côté, la composition, les propriétés de la nourriture et l'état des parties voisines du canal digestif, d'autre côté.

On a pourtant peu fait dans cette direction. A côté d'une grande quantité de données concernant l'activité des sphincters cardiaque et pylorique, données qui montrent que le travail de ces sphincters s'adapte d'une manière très délicate aux circonstances, il n'y a que des constatations accidentelles en ce qui concerne le sphincter préantral. Par l'action de ce sphincter peut être expliqué la constatation connue, suivant laquelle les liquides quittent relativement rapidement l'estomac, tandis que les matières solides y sont retenues considérablement plus longtemps: Schemiakine (14) et Kelling (11) soulignent tous les deux que les liquides passent dans l'antre pylorique plus rapidement que les matières solides. Il s'en suit que les propriétés mécaniques des aliments jouent un rôle dans la formation du resserrement transversal.

Chez Cathcart (5) nous trouvons une deuxième indication très intéressante: cet auteur a constaté notamment que, même à l'introduction d'une nourriture liquide comme des solutions minérales et l'extrait de viande de Liebig, les résultats de l'activité du sphincter préantral deviennent plus prononcés; les portions qui passent diminuent et les intervalles entre les portions augmentent dans le cas où, quelques minutes avant de verser le liquide dans l'estomac, on excite le chien par la vue de la nourriture. Ce fait suggère l'hypothèse de l'influences des autres parties du canal digestif sur le travail du sphincter qui nous intéresse.

Nous avons commencé ces recherches pour compléter les données concernant ce problème.

Technique.

A chacun de deux chiens „Ani“ et „Arap“ nous avons fait trois fistules:

1) Dans le fond de l'estomac pour le laver, vider et pour introduire directement dans l'estomac les matières à essayer.

2) Dans la région pylorique de l'estomac pour observer comment sort le mélange alimentaire et, par conséquent, comment il entre dans l'antre pylorique.

3) Dans le duodénum, un peu au dessous du point où tombe le canal pancréatique inférieur, pour introduire les matières á essayer dans l'intestin.

Nous avons tâché de disposer les deux premières fistules de telle manière qu'elles ne créent pas, d'un côté, d'obstacles mécaniques à la formation du resserrement et qu'elles ne provoquent de courbures artificielles, d'autre côté.

Les expériences consistaient en ceci: la fistule du fond étant fermée et la fistule pylorique restant ouverte, on donnait au chien à manger une nourriture déterminée et on observait la sortie du contenu de l'estomac de la fistule pylorique, on notait toutes les minutes la quantité de matière rejetée. La fistule duodénale restait fermée ou était réunie à l'aide d'un tube de caoutchouc avec un entonnoir pour l'introduction des excitants dans le duodénum. La plupart des expériences ont été faites sur le chien „Ani". Le deuxiéme chien a été opéré pour vérifier et compléter les résultats obtenus dans les expériences avec „Ani".

Nous voulons dire quelques mots pour justifier la méthode que nous avons suivie dans ce travail. Certains auteurs indiquent qu'on crée des conditions innaturelles, lorsqu'on fait sortir les aliments dehors par une fistule ouverte, parce qu'on élimine ainsi l'influence de ces aliments sur les parties du canal digestif qui se trouvent au dessous de la fistule.

Cette objection est justifiée lorsqu'il s'agit de l'étude du tableau général du passage des aliments dans l'antre. Mais si on veut analyser les faits isolés, cette condition anormale présente des avantages, l'étude du rôle des parties isolées du canal digestif n'étant possible qu'à la condition qu'elles soient soustraites à l'influence de l'entrée fatale du mélange alimentaire et qu'elles soient exposées à des influences déterminées à notre volonté.

Le rôle des propriétés mécaniques des aliments.

En abordant nos recherches nous avons eu en vue l'influence sur le sphincter préantral des facteurs qui ne sont pas liés directement à la nourriture donnée. Mais avant d'étudier l'influence des excitations de différentes sortes, il fallait connaître la marche naturelle des contractions de ce sphincter: il fallait chercher les conditions dans lesquelles on aurait pu faire ressortir le rôle des facteurs qui nous intéressent. C'est pourquoi nous avons étudié d'abord comment différentes sortes d'aliments passent dans l'antre pylorique. Prenant comme point de départ les indications connues concernant le rôle du facteur mécanique, nous avons fait une série d'expériences avec différentes sortes de nourriture

liquide dont la teneur en matières solides augmentait peu à peu ou avec une nourriture dont on faisait la consistance peu à peu plus dense

Dans les tableaux I et II nous citons les données concernant la sortie de la fistule pylorique du lait et de la soupe d'avoine.

Tableau I.

300 cm. c. de lait.

Temps en minutes.	„A n i".												„Arap".	
	24/II exp. 1.	24/II exp. 2.	26/II exp. 1.	27/II	3/III exp. 2.	4/III	6/III exp. 2.	10/III exp. 1.	10/III exp. 3.	11/III	12/III	2/V	6/IX	23/IX
5	168	225	195	255	105[1])	320	227	289	240	265	190	30[2])	236	231
10	56	69	72	48	140	20	50	31	38	43	58	107	3	5,5
15	44	45	12	29	46	18	30	34	24	38	35	98	4	4,0
20	53	9	9	30	24	18	22	—	23	17	20	33	7	14,0
25	16	14	15	13	24	—	12	—	26	—	—	17	2	4,5
30	14	11	7	14	25	—	—	—	27	—	—	31	2	3,0
35	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	40	5	3,0
40	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	30	3	0,5
45	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	3,0
50	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1,0
55	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5	0,2
60	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4,3
65	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3,5
70	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3,5
75	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1,0
A la fin de l'expérience on a fait sortir de la fistule du fond.	7 c. c.	5 c. c.	10 c. c.	—	5 c. c.	—	—	25 c. c.	—	—	50 c. c.	20 c. c.	—	—

1) Cette expérience a été faite immédiatement après l'expérience avec HCl à 0,1 p. 100. V. tabl. VIII et p. 17.

2) Deux jours avant cette expérience (30/IV) une expérience avec la graisse a été faite. V. p. 16.

Si l'on fait abstraction de quelques expériences isolées qui sont faites dans des conditions un peu anormales (V. notes des tableaux I et II et des pages 16 et 17) et dont les résultats ne concordent pas avec les résultats des autres expériences, on doit conclure que l'expulsion du lait et de la soupe d'avoine a une marche bien déterminée et typique; cette marche est caractérisée par une grandeur élevée au cours des 5 premières minutes et par une élimination relativement modérée des restes et des sucs durant les 20 à 30 minutes suivantes.

Si la même quantité (300 c. c.) de lait est additionnée de 100 gr. de poudre de viande et de pain grillé, la marche du phénomène est tout

Tableau II.

300 cm. c. de soupe d'avoine.

Temps en minutes.	„A n i".								
	26/II exp. 2.	4/III exp. 3.	5/III exp. 1.	5/III exp. 2.	6/III exp. 1.	6/III exp. 3.	10/III	11/III	29/III
5	190	5 [1]	255	135 [2]	145	122	295	268	285
10	98	97	21	152	175	185	57	44	48
15	25	163	7	100	31	27	10	13	23
20	13	34	15	125	—	21	18	17	—
25	10	14	17	33	—	—	—	—	—
30	14	17	—	13	—	—	—	—	—
A la fin de l'expérience on a fait sortir de la fistule du fond.	15 c. c.	30 c. c.	—	—	30 c. c.	30 c. c.	—	20 c. c.	—

1) A la veille (3/III) on a fait une expérience avec HCl à 0,1 p. 100.

2) Au commencement de la 1-ière expérience (5/III) la réaction de l'estomac a été alcaline, au commencement de la 2-ième expérience il y avait une sécrétion abondante du suc gastrique.

autre (v. tableau III). Dans ce cas déjà au cours de cinq premières minutes sont expulsées des portions considérablement plus petites; si le maximum est ici aussi, pour la plupart, atteint au début, les premières portions, au point de vue de la quantité, se distinguent peu des portions suivantes: le passage traîne ici 60 à 70 minutes et plus; les sucs étant dans ce cas éliminés dans des plus grandes quantités, la quantité générale du chyme augmente aussi. Dans ces cas aussi, parmi le grand nombre de chiffres, il n'y a que 2 expériences qui présentent une exception (le chiffre très bas de la première portion), qui doit être expliquée par les conditions particulières de ces expériences.

Nous trouvons une marche analogue à celle décrite ci-dessus dans les expériences avec 300 c. c. du lait + 50 gr. de poudre de viande et de pain grillé résumés dans le tableau IV. Dans les expériences sur le chien „Arap" il est intéressant de comparer celles avec 300 c. c. de lait + 50 gr. de poudre de viande et de pain grillé à celles avec 300 c. c. de lait + 20 gr. de poudre de viande et de pain grillé, parce que de telle manière on peut faire bien ressortir le rôle de la quantité des parties solides.

Outres les expériences citées, nous avons fait des expériences avec une solution d'extrait de viande de Liebig à $5^0/_0$. La solution pure, donnée dans la quantité de 300 c. c., n'est pas arrêtée dans la partie de fond; elle s'écoulait durant les premières 3 à 4 minutes par un jet con-

Tableau III.

300 cm. c. de lait additionné de 100 gr. de poudre de viande et de pain grillé.

Temps en minutes	„Ani".											
	12/IV	15/IV	22/IV exp. 1.	22/IV exp. 2.	26/IV exp. 2.	29/IV	10/V	14/V	19/V	30/V	23/VI	28/VI
5	85	98	49	70	53 [1]	43	10 [2]	60	36 [3]	51	105	65
10	51	50	46	53	86	41	37	61	46	74	63	74
15	38	34	29	49	68	44	38	70	42	48	28	55
20	24	47	31	43	10	46	55	69	42	47	44	50
25	25	24	31	49	35	56	69	45	48	46	64	50
30	13	29	50	35	49	54	85	62	58	56	53	56
35	32	27	41	43	31	56	47	75	45	46	36	39
40	23	27	38	35	58	32	50	49	38	48	42	37
45	26	25	38	37	50	32	25	45	43	42	43	36
50	28	16	42	28	15	42	25	39	53	25	30	26
55	10	—	34	42	17	30	6	35	28	30	30	27
60	20	—	38	35	20	29	14	34	50	40	21	33
65	—	—	—	28	21	23	10	13	49	31	20	32
70	—	—	—	40	22	22	16	17	59	27	15	49
75	—	—	—	46	20	23	—	—	49	34	—	57
80	—	—	—	35	19	25	—	—	41	36	—	45
85	—	—	—	25	—	—	—	—	45	43	—	35
90	—	—	—	22	—	—	—	—	77	27	—	25
95	—	—	—	—	—	—	—	—	24	—	—	—
100	—	—	—	—	—	—	—	—	19	—	—	—
A la fin de l'expérience on a fait sortir de la fistule du fond.	25 c. c.	—	—	150 c. c.	50 c. c.	—	—	—	35 c. c.	25 c. c.	30 c. c.	110 c. c.

1) A la veille (25/IV) une expérience avec la graisse a été faite. V. tabl. VIII et p. 16.

2) Le 5/V une expérience avec HCl à 0,4 p. 100 et le 6/V une expérience avec la graisse a été faite.

3) Le 17/V une expérience avec HCl à 0,4 p. 100 a été faite. V. tabl. VIII et p. 17.

tinu. Si cette solution (300 c. c.) est additionnée de poudre de viande et de pain grillé le passage dure 1 h. 40 m. (v. tabl. V exp. du 28/IV).

Les expériences avec le lait additioné de biscuit de chien broyé (t. V) n'apportent rien de nouveau en ce qui concerne les résultats et confirment seulement les résultats déjà cités.

Enfin dans le tableau VI nous trouvons les expériences avec des aliments, qui ne contiennent pas de parties solides, mais qui présentent des différences bien prononcées au point de vue de la consistance. Le rôle de la consistance se relève d'une manière bien accentuée particulièrement dans les expériences sur „Ani".

Tableau IV.

300 cm. c. de lait + poudre de viande et de pain grillé.

Temps en minutes.	„A n i“. 50 gr.				„A r a p“. 50 gr.			„A r a p“. 20 gr.	
	21/IV	21/IV exp. 2.	18/IV	23/IX	5/IX	9/IX	20/IX	10/IX	11/IX
5	257	73[1])	30[2])	65	14	21	14	56,0	62,0
10	38	86	24	58	29	11	11	3,5	1,5
15	52	71	89	57	36	24	22	4,5	15,5
20	48	43	123	65	12	6	20	8,5	12,0
25	36	39	89	60	10	4	12	9,5	10,0
30	26	31	14	43	12	14	14	10,0	6,0
35	24	33	19	37	18	13	13	9,0	9,5
40	36	119	18	33	12	12	8	12,0	4,5
45	25	32	—	14	9	7	10	8,0	9,0
50	—	25	—	29	1	9	7	2,5	2,5
55	—	26	—	8	5	5	9	8,5	1,0
60	—	25	—	6	—	9	5,5	9,0	5,0
65	—	23	—	8	—	12	6,5	10,0	5,0
70	—	32	—	3	—	13	3,5	9,0	3,0
75	—	36	—	—	—	11	3,5	5,0	1,5
80	—	—	—	—	—	5	5,0	6,0	1,5
85	—	—	—	—	—	8	2	6,0	1,0
90	—	—	—	—	—	14	3	3,0	2,0
95	—	—	—	—	—	16	5	4,5	1,0
100	—	—	—	—	—	7	3,5	1,5	1,0
105	—	—	—	—	—	14	1,0	2,0	0,0
110	—	—	—	—	—	15,5	2,5	1,5	1,0
115	—	—	—	—	—	7,5	4,0	2,0	1,0
120	—	—	—	—	—	4,0	4,0	3,5	0,0
125	—	—	—	—	—	5,5	3,0	3,0	1,5
130	—	—	—	—	—	3,5	7,5	3,5	—
135	—	—	—	—	—	1,5	3,5	3,5	—
140	—	—	—	—	—	3,5	2,0	2,5	—
145	—	—	—	—	—	1,0	4,0	1,0	—
150	—	—	—	—	—	2,0	3,5	1,0	—
155	—	—	—	—	—	—	4,0	2,0	—
160	—	—	—	—	—	—	2,5	2,0	—
165	—	—	—	—	—	—	3,5	—	—
170	—	—	—	—	—	—	4,5	—	—
A la fin de l'expérience on a fait sortir de la fistule du fond.	—	50 c. c.	—	quantité insignifiante	—	—	environ 45 c. c.	—	—

1) Immédiatement après l'expérience précédente.
2) Immédiatement après l'expérience avec la graisse. V. tabl. VII et p. 16.

Tableau V.

„A n i“.

Temps en minutes.	Lait additionné de biscuit de chien broyé.								300 cm. c. d'extrait de Liebig à 5% + 100 gr. de poudre de viande et de pain grillé.
	300 cm. c. de lait + 100 gr. de biscuit.				150 cm. c. de lait + 50 gr. de biscuit.			200 cm. c. lait + 30 gr. biscuit.	
	12/III exp. 2.	17/III	19/III	20/III	24/III exp. 1.	24/III exp. 2.	26/III	11/IV	28/IV
5	40	58	38	205	15	33	66	83	33
10	64	108	76	53	17	45	34	34	139
15	74	48	122	34	38	23	23	28	91
20	42	53	43	24	23	30	20	29	31
25	30	21	28	24	31	25	16	22	40
30	26	24	24	29	31	25	12	38	35
35	21	21	25	33	19	13	16	18	43
40	19	19	23	18	10	18	—	20	35
45	14	10	29	15	—	—	—	—	23
50	15	12	11	14	—	—	—	—	19
55	11	16	—	9	—	—	—	—	29
60	6	12	—	9	—	—	—	—	15
65	7	7	—	—	—	—	—	—	24
70	8	17	—	—	—	—	—	—	18
75	20	8	—	—	—	—	—	—	23
80	9	15	—	—	—	—	—	—	17
85	11	23	—	—	—	—	—	—	12
90	6	12	—	—	—	—	—	—	13
95	3	5	—	—	—	—	—	—	11
100	—	10	—	—	—	—	—	—	7
105	—	13	—	—	—	—	—	—	8
110	—	15	—	—	—	—	—	—	—
115	—	5	—	—	—	—	—	—	—
A la fin de l'expérience on a fait sortir de la fistule du fond.	15 c. c.	10 c. c.	—	—	—	20 c. c.	—	—	—

Ces données présentent déjà en soi-même un certain intérêt parce qu'elles font ressortir le grand rôle que le facteur mécanique joue dans l'activité du sphincter qui nous intéresse. Elles montrent que les propriétés mécaniques des aliments ont une forte influence sur la contraction du sphincter et qu'elles déterminent le rythme et le degré de ses relâchements périodiques. Tandis que lorsque l'animal est nourri de liquides (eau, solutions d'extrait de Liebig), les deux régions de l'estomac ne sont pas séparées et les liquides, sans s'arrêter dans la partie de fond, passent dans la région

Tableau VI.

Temps en minutes.	50 cm. c. de lait + 250 cm. c. d'empois d'amidon.			Empois préparé avec 150 cm. c. de lait + 150 cm. c. d'eau + amidon.						
	5%	7%	10%	10%	5 gr.	10 gr.	10 gr.	10 gr.	20 gr.	30 gr.
	12/VI	16/VI	17/VI	6/IX	6/X	17/IX	26/IX	18/II 1915	16/IX	15/IX
	„Ani".			„Arap".						
5	240	50	17	1	5,5	2,5	3,0	41,0[1])	8,0	2,0
10	31	176	34	5	5,0	25,5	1,5	3,0	19,0	6,0
15	35	90	37	25	83,0	90,0	24,0	57,0	17,0	20,0
20	13	56	45	45	54,0	74,0	44,5	77,0	27,0	24,0
25	—	75	54	56	32,0	77,0	81,0	68,0	37,0	31,0
30	—	25	50	39	9,0	34,5	82,0	23,0	55,0	50,0
35	—	—	52	6	15,0	22,5	36,0	5,0	43,0	58,0
40	—	—	44	5	12,0	8,0	3,5	5,0	19,0	56,0
45	—	—	44	6	1,5	15,0	17,5	11,0	15,0	54,0
50	—	—	48	15	1,5	14,0	12,5	3,0	36,0	47,0
55	—	—	60	7,5	2,0	21,0	12,0	—	14,0	27,0
60	—	—	33	4,5	0,5	10,0	6,0	—	9,5	11,0
65	—	—	49	3,5	—	1,0	3,5	—	2,5	19,0
70	—	—	40	1,5	—	—	0,5	—	2,0	5,0
75	—	—	47	1,0	—	—	—	—	2,5	11,0
80	—	—	37	1,5	—	—	—	—	1,5	7,5
85	—	—	28	2,5	—	—	—	—	1,0	6,0
90	—	—	30	1,0	—	—	—	—	2,5	2,5
95	—	—	—	1,0	—	—	—	—	—	—
A la fin de l'expérience on a fait sortir de la fistule du fond.	—	50 c. c.	60 c. c.	10 c. c.	50 c. c.	15 c. c.	25 c. c.	50 c. c.	20 c. c.	50 c. c.

1) Toute l'expérience a été faite à la fistule duodénale ouverte.

pylorique et s'écoulent par un jet continu de la fistule de telle manière que, 3 à 5 minutes après l'introduction de la nourriture, l'estomac est déjà vide; la nourriture plus dense (comme par exemple les empois d'amidon) ou la nourriture contenant des particules solides (lait ou extrait de Liebig additionnés de poudre de viande et de pain grillé ou de biscuit de chien broyé) provoque aussitôt après l'introduction la formation du resserrement; de temps en temps il y a de faibles relâchements, ce qui permet à des petites portions du mélange alimentaire de passer à des intervalles de plusieurs minutes. Plus la quantité de matières solides additionnées est grande, plus la consistance de la nourriture est dense:

plus tôt le resserrement apparait, plus il est développé et plus les portions qui passent sont petites. A chaque consistance de la nourriture, à chaque proportion de matières solides additionnées correspond ainsi un degré déterminé de travail du sphincter et par conséquence une courbe de passage déterminée[1]). Ce phénomène ainsi qu'il suit de nos constatations se répète d'une manière constante.

Il est d'intérêt d'indiquer que dans un mélange contenant un liquide et des parties solides non seulement les matières solides sont arrêtées, mais la partie liquide de la nourriture est aussi retenue, ce qui entraîne la diminution générale des portions qui passent (v. tabl. I, III, IV et V). Mais, ainsi que l'ont déjà indiqué différents auteurs, dans la partie de fond a lieu, à ce qu'il paraît, une défécation rapide de la nourriture et les parties liquides de la nourriture sont tout de même expulsées plus tôt que les parties solides. Dans plusieurs expériences nous avons laissé reposer dans des cylindres gradués des portions recueillies de la fistule pylorique au cours de différentes périodes de l'expérience: le dépôt était plus petit dans les premières portions, il augmentait peu à peu ensuite.

On peut considérer que la signification de tous ces phénomènes est la suivante: plus longtemps les parties solides restent dans le fondus, plus l'action qu'elles subissent de la part du suc gastrique sera forte et plus fortement elles seront macérées lorsqu'elles passeront dans la région pylorique et dans l'intestin. Sous ce rapport on peut rappeler ici la sensibilité spéciale de la région pylorique aux excitations mécaniques, qui provoquent une série d'effets dans la région pylorique même et dans les autres parties du canal digestif.

Les faits cités plus haut suggèrent la question suivante: de quelle manière dépend le travail du sphincter préantral des propriétés mécaniques de la nourriture, quelles regions du canal digestif doivent être considérées comme des organes récepteurs de l'excitant mécanique? Nous espérons étudier ce problème dans un travail ultérieur. Suivant les constatations que nous avons faites déjà á l'heure actuelle, on doit supposer que dans ce mécanisme entrent déjà en jeu les parties supérieures du tube digestif: lorsque l'animal est nourri d'une nourriture plus solide, le sphincter se contracte avant que les premières portions passent dans l'antre pylorique.

En ce qui concerne le degré de la contraction du sphincter et de la séparation de deux cavités qui dépend de cette contraction il est à

1) La quantité absolue différente de mélange alimentaire, qui est rejetée de la fistule dans les expériences où différentes sortes de nourriture ont été essayées, s'explique certainement par la quantité différente de sucs digestifs (salive et suc gastrique) qui se mélangent avec les aliments.

peine possible, dans les conditions de nos expériences d'avoir une idée exacte de ces phénomènes à chaque moment donné. Pour régler le passage, la lumière ne doit pas être nécessairement complètement fermée, parce que déjà la formation d'un bourrelet plus on moins haut à la surface inférieure de la paroi de l'estomac peut empêcher l'écoulement du liquide dans l'antre. Il est possible qu'habituellement, comme d'ailleurs en témoignent les observations röntgenoscopiques de Cannon (4a), il n'y ait qu'un retrécissement de la lumière entre le fondus et l'antre, mais il est certain que quelquefois dans des conditions tout à fait normales, notamment lorsque l'animal est nourri de substances, telles que le lait additionné de poudre de viande et de pain grillé, les deux cavités sont complètement isolées. Au cours des premières minutes après l'introduction de la nourriture, à ce qu'il paraît, avant que le contenu de l'estomac soit suffisamment acidulé, on observe chez le chien, comme règle, des renvois qui conduisent à l'éjection rapide et forte de l'estomac, par le cardia, des gaz et d'une certaine quantité des parties liquides de la nourriture [1]); à ces moments, malgré l'augmentation rapide et forte de la pression dans la partie de fond, pas une seule goutte de liquide n'est éliminée de la fistule pylorique.

Influences duodénales.

1. Graisse.

Ayant établi que le lait additionné de poudre de viande et de pain grillé et différentes sortes d'empois d'amidon présentent des aliments qui passent peu à peu et d'une manière uniforme dans l'antre pylorique, nous avons choisi ces matières pour étudier l'influence de différentes parties du canal digestif sur l'activité du sphincter préantral. Sous ce rapport notre attention a été attirée avant tout par le duodénum, l'organe d'où sortent une série d'influences différentes sur le travail de diverses parties du canal digestif. Le premier excitant que nous avons choisi dans ce cas était la graisse. On sait que la graisse se trouvant dans le duodénum provoque par voie réflexe la sécrétion du suc pancréatique, l'entrée de la bile dans l'intestin, l'arrêt de la sécrétion du suc gastrique, l'interruption ou l'affaiblissement des contractions de l'estomac, le ralentissement du passage de la nourriture de l'estomac dans l'intestin; c'est pourquoi on a droit de supposer que le contact de la graisse avec le duodénum a une certaine influence sur le travail du sphincter préantral.

---

1) La projection rythmique du liquide neutre de l'estomac dans l'oesophage, projection qui est liée à l'ouverture du sphincter cardiaque, est décrite par Cannon (4b) comme un phénomène normal.

Les expériences, dans lesquelles nous avons introduit dans le duodénum, 5 à 10 minutes avant l'ingestion, 25 à 40 c. c. d'huile d'olive chaud, nous ont montré en effet que notre supposition était juste. Nous avons constaté que la graisse est un excitant puissant du sphincter prépylorique, provoque un spasme tonique de longue durée et exclut ainsi la possibilité du passage des aliments dans l'antre pylorique.

Le mélange alimentaire qui devait, suivant un grand nombre de nos observations, apparaître dans la fistule pylorique dans 4 à 5 minutes et ensuite être expulsé peu à peu durant 45 à 60 à 65 minutes, a été sous l'influence de la graisse arrêté dans le partie de fond et n'apparaissait dans l'antre pylorique que dans 35 à 70 minutes, suivant la quantité de graisse introduite. Dans toutes les expériences nous avons eu devant nous la même marche typique caractéristique du phénomène (v. tabl. VII). Durant les premiers moments après l'introduction de la graisse dans la fistule duodénale, de petites quantités de graisse (1 à 2 c. c.) mélangée de bile étaient projetées dans l'estomac [1]) et s'écoulaient par la fistule pylorique, puis suivait manifestement une contraction du sphincter pylorique, et l'élimination de la graisse n'avait plus lieu. Parfois pendant les premiers moments de petites quantités d'aliments pénétraient dans l'antre pylorique, mais ensuite l'expulsion cessait et durant 35 à 50 minutes pas une goutte n'etait plus habituellement expulsée; seulement rarement apparaissaient des toutes petites quantités. Pendant ce temps un peu de mucus et de suc était sécrété ou il n'y avait pas du tout de sécrétion. Ensuite, dans 35 à 40 minutes à partir du moment de l'introduction de la graisse, le mélange duodénal commençait à être expulsé: un liquide alcalin, renfermant du suc pancréatique, de la bile, des gouttes de graisse et des produits de sa décomposition; cela durait 10 à 15 minutes et ce n'est qu'ensuite que commençait brusquement l'expulsion des aliments. La marche du phénomène dans les phases suivantes ne présentait rien d'extraordinaire, il y avait parfois des spasmes secondaires plus courts du sphincter.

De ce qui précède on doit conclure qu'aux certains moments de la digestion de la graisse le relâchement du pylore a lieu en même temps que la contraction du sphincter préantral: l'antre pylorique est séparé pendant un certain temps de l'autre partie de l'estomac, mais communique avec le duodénum [2])

---

1) En ce qui concerne ce phénomène v. chez Boldyreff (3).

2) Cathcart (6) indique qu'il est possible que le mélange de la bile et du suc pancréatique soit projeté dans l'antre pylorique, mais ne pénètre pas dans le fondus à la suite du resserrement du sphincter prépylorique.

Tableau VII.

Temps en minutes.	„A n i".				„A r a p".	
	30 cm. c. d'huile d'olive.				40 cm. c. d'huile d'olive	
	ont été introduits dans le duodénum avant l'ingestion					
	300 cm. c. de lait + 50 gr. de poudre de vian. et p. g.	300 cm. c. de lait + 100 gr. de poudre de viande et de pain grillé			150 cm. c. de lait + 150 cm. c. d'eau + 10 gr. d'amidon	
	18/IV 2′ avant	25/IV 4′ avant	6/V 15′ avant	12/V 10′ avant	17/IX 10′ avant	24/IX 10′ avant
5	35 a.+d.	14 g.	22 a.+d.	6 g.	1,0 d.	5,5 d.+a.
10	5 a.+g.	5 g.	19 a.+g.	2 g.	0,5 g.	3,5 d.+a.
15	1 g.	5 g.	28 g.+d.	2 g.	0,25 g.	4,0 d.
20	5 a.+d.	5 g.	36 g.+d.	3 g.	0,25 g.	7,0 d.
25	17 a.	7 g.	33 a.+g.+d.	3 g.	0,0 g.	14,0 d.+a.
30	33 „	5 g.	29 a.+g.+d.	3 g.+d.	0,5 g.+d.	5,5 d.
35	36 „	} 5 g.	47 a.+g.	34 d.	0,5 g.+d.	0,25 d.
40	10 „		32 a.	21 a.+d.	0,5 d.	0,25 d.
45	23 „	4 d.	46 „	21 a.+d.	2,0 g.+d.	0,5 d.
50	24 „	15 d.+a.	31 „	38 a.+d.	4,5 d.	9,5 d.
55	58 „	8 a.	35 „	40 a.	11,5 d.	9,0 d.+a.
60	21 „	2 „	65 „	60 „	18,0 d.	2,5 a.
65	9 „	10 „	39 „	102 „	11,5 d.	13,5 „
70	—	11 „	46 „	35 „	4,5 a.	126,0 „
75	—	9 „	39 „	33 „	33,0 „	10,0 „
80	—	8 „	36 „	14 „	25,0 „	17,0 „
85	—	20 „	35 „	—	14,0 „	12,0 „
90	—	6 „	33 „	—	25,0 „	5,0 „
95	—	8 „	54 „	—	14,0 „	5,0 „
100	—	12 „	18 „	—	11,0 „	5,5 „
105	—	11 „	—	—	11,0 „	8,0 „
110	—	28 „	—	—	13,5 „	3,0 „
115	—	3 „	—	—	5,5 „	2,0 „
120	—	16 „	—	—	2,5 „	9,0 „
125	—	3 „	—	—	0,5 „	6,5 „
130	—	6 „	—	—	0,5 „	3,5 „
135	—	—	—	—	0,5 „	2,0 „
140	—	—	—	—	0,0 „	3,5 „
145	—	—	—	—	1,0 „	5,5 „
150	—	—	—	—	2,0 „	4,0 „
155	—	—	—	—	2,0 „	4,0 „
160	—	—	—	—	0,5 „	—
A la fin de l'expérience on a fait sortir de la fistule du fond.	—	—	—	40 c. c.	45 c. c.	20 c. c.

Explications au tableau VII.
g. = suc gastrique.
d. = mélange duodénale (bile, suc pancréatique, gouttes d'huiles etc.).
a. = mélange alimentaire.

En ce qui concerne la signification des faits décrits, nous n'avons pas droit de faire des conclusions définitives. Mais les considérations suivantes paraissent directement découler de faits observés. La région pylorique est un organe qui, par le caractère de matières sécrètées, est analogue, en partie, à la région du fond, en partie, au duodénum, notamment à sa partie supérieure (où se trouvent les glandes de Brunner). La manière dont son appareil de sécrétion se comporte par rapport à toute une série de facteurs mécaniques et chimiques la rapproche aussi du duodénum. Enfin, d'une manière analogue que la partie supérieure du duodénum et en différence avec le fondus, la région pylorique est un organe récepteur qui concentre une série d'influences sur les autres parties du canal digestif, mais qui par le caractère des excitants et les effets provoqués se distingue bien du duodénum. Il est dès lors très naturel que la région pylorique ait la possibilité, suivant la composition de la nourriture et la phase de sa transformation, de communiquer tantôt avec l'estomac, tantôt avec le duodénum. En particulier, en ce qui concerne la graisse, il est intéressant de rappeler les données suivantes. La graisse, qui subit des transformations dans l'intestin, en agissant sur la muqueuse duodénale, provoque la sécrétion dans l'intestin des sucs correspondants (de la bile et du suc pancréatique), mais gêne la sécrétion gastrique. Pourtant plus tard, lorsque la graisse est décomposée, les produits de sa transformation, les savons, provoquent une sécrétion abondante du suc gastrique (de fondus). Cette action du savon ne peut être réalisée qu'au contact avec la muqueuse de la région pylorique. La marche des processus de sécrétion correspond ainsi de telle manière aux faits établis par nous que c'est à peine si on peut nier un lien étroit entre ces deux séries de phénomènes.

Outre l'action directe de la graisse qui se manifestait pendant que la graisse non décomposée se trouvait dans le duodénum et qui cessait lorsque la masse principale était décomposée, on observait l'influence du séjour de la graisse encore quelque temps après: durant les 2 à 3 jours suivants le mélange alimentaire passait dans l'antre avec un certain retard et les résultats de ces expériences différaient de résultats uniformes des expériences normales[1]) (v. tabl. I exp. 2/V, tabl. III exp. 26/IV et 10/V, tabl. IV exp. 18/IV).

Nous n'avons pas encore réussi à établir si ces influences dépendent de l'action de la graisse même et des produits de sa décomposition ou si elles sont liées à l'hypersécrétion consécutive du suc gastrique entraînée par l'action de la graisse (l'action de l'acide chlorhydrique). V.

1) Le fait que l'influence de la graisse se manifeste encore quelques jours après l'introduction de cette substance a été constaté par beaucoup d'auteurs qui ont étudié l'activité motrice et la sécrétion du canal digestif.

2. Acide.

Les résultats de nos expériences avec la graisse, qui ont été répétées plusieurs fois, toujours avec le même succès, nous ont suggéré l'idée d'essayer l'action d'un autre excitant, notamment l'action de l'acide chlorhydrique qui provoque, étant en contact avec le duodénum, une série d'effets et en particulier, la fermeture du pylore et l'arrêt des aliments dans l'estomac. Nous n'avons fait jusqu'à présent que peu d'expériences dont les résultats sont résumés dans le tableau VIII. A notre étonnement l'acide qui est un fort excitant vis-à-vis du sphincter pylorique, s'est montré peu efficace par rapport au sphincter préantral.

Dans le petit nombre d'expériences que nous avons faites et dans lesquelles 10 à 15 m. avant l'ingestion on introduisait 30 à 50 cm. c. de HCl à 0,2 ou 0,4 p. 100, nous n'avons pas constaté d'influence notable sur le sphincter préantral. Le passage des aliments dans l'antre se faisait en général d'une manière normale; s'il y avait un arrêt, il était peu considérable: comme d'ordinaire, le passage commence déjà au cours des premières minutes après l'ingestion; les portions qui passent durant les intervalles de 5 minutes diffèrent peu des portions normales, il n'y a que cette différence que d'ordinaire on obtient les chiffres les plus élevés pour les premiers trois ou quatre intervalles, tandis que dans les expériences avec l'acide les portions du premier quart d'heure sont un peu plus petites et les portions les plus grandes passent plus tard. En tout, on obtient des résultats analogues, en ce qui concerne les déviations de la norme, à ceux que l'on constate dans les expériences qui ont été faites le 2ième et 3ième jour après l'introduction de la graisse dans le duodénum. Dans les expériences avec l'introduction de HCl à 0,1 et 0,2 p. 100, deux à trois minutes avant l'ingestion, il n'y avait pas de ralentissement du passage. Il est possible que, à l'emploi d'autres quantités et concentrations et d'un autre mode d'introduction, les effets de l'action de l'acide eussent été plus forts. Il est intéressant que, malgré son effet faible immédiat, l'action de l'acide se faisait sentir ainsi que dans les expériences avec la graisse assez longtemps après, ce qui se manifeste par la marche un peu anormale des expériences qui ont été faites aussitôt après les expériences avec l'acide (v. tabl. I exp. 3/III, tabl. II exp. 4/III et tabl. III exp. 10/V et 19/V). L'introduction de HCl à 0,1 p. 100 trois minutes avant l'introduction du lait n'avait pas de suites immédiates (tabl. VIII exp. 3/III) mais a influencé les résultats de l'expérience faite 40 minutes après[1]) avec les mêmes 300 cm. c. de lait (tabl. I exp. 3/III).

---

1) Katznelson (10) a constaté en 1904 que l'introduction de l'acide dans le duodénum entraîne des troubles de longue durée de l'activité motrice et de la sécrétion du canal digestif.

Tableau VIII.

„Ani“.

Temps en minutes.	Avant l'ingestion				
	300 cm. c. de lait	300 cm. c. de lait + 100 gr. de poudre de viande et de pain grillé			
	on a introduit dans le duodénum d'acide chlorhydrique à				
	0,1 p. 100	0,2 p. 100	0,4 p. 100		0,2 p. 100
	50 cm. c. pour une fois				10 cm. c. 2′ avant et 4 fois 5 cm. c. chaque fois toutes les 2′
	3′ avant	15′ avant	15′ avant	10′ avant	
	3/III	3/V	5/V	17/V	10/VI
5	242	30+d	43	36+d	133+d
10	38+d	40+d	53	51+d	94
15	23+d	42+d	57	29	38
20	16+d	43+d	35	28	48
25	13	78+d	46	19	45
30	7	78+d	50	59	31
35	—	53	60	32	21
40	—	55	48+d	36	13
45	—	59	90+d	37	35
50	—	89	32	34	38
55	—	38	30	38	25
60	—	100	25	43	20
65	—	44	32	48	27
70	—	31	29	45	24
75	—	30	29	34	—
80	—	25	31	17	—
85	—	—	49	—	—
90	—	—	21	—	—
95	—	—	—	—	—
A la fin de l'expérience on a fait sortir de la fistule du fond.	5 c. c.	50 c. c.	32 c. c.	20 c. c.	15 c. c.

Explication au tableau VIII.
+ d = les sucs du duodénum qui se mélangent avec les aliments.

Conclusions.

Nous pouvons résumer les résultats de nos recherches de la manière suivante:

1. L'activité du sphincter prépylorique (préantral) dépend à un degré considérable des propriétés mécaniques des aliments: plus les aliments

contiennent des parties solides, plus sa consistance est dense: plus la séparation de deux parties de l'estomac est complète et plus les portions du mélange alimentaire qui passent de temps en temps dans l'antre pylorique sont petites.

2. La présence de la graisse (30,0 à 40,0 c. c. d'huile d'olive) conduit à une contraction tonique et forte de longue durée du sphincter prépylorique, qui interrompt complètement le passage des aliments dans l'antre pour un intervalle de 30 à 70 minutes.

3. Le relâchement du sphincter préantral après le spasme provoqué par la graisse est précédé du relâchement du sphincter pylorique et de la projection du mélange duodénal dans l'antre; on voit ainsi qu'à des moments déterminés de la digestion des aliments gras l'antre est complètement séparé de la partie de fond, mais communique librement avec le duodénum.

4. L'acide chlorhydrique introduite en quantité de 50,0 cm. c. de 0,1 à 0,4 p. 100 en agissant sur la muqueuse du duodénum n'a qu'une faible influence sur l'activité du sphincter prépylorique; si le passage des aliments de la partie de fond dans l'antre pylorique est ralenti, cela se manifeste d'une manière peu sensible.

Bibliographie.

1. J. Auer. „The course of the contraction wave in the stomach of the rabbit". *The American Journ. of Physiol.*, V. XXIII, 1908—1909, p. 165—173.
2. Beaumont. Cité d'après Cannon (4a).
3. W. N. Boldyreff. „Der Uebertritt des natürlichen Gemisches aus Pankreassaft, Darmsaft und Galle in den Magen". *Arch. f. die ges. Physiol.*, Bd. 121, 1908, p. 13.
4. W. B. Cannon. „The mechanical factors of digestion". London, 1911. a) Chapter V, pp. 51—57. b) Chapter IV, pp. 36—42.
5. E. P. Cathcart. „The prepyloric sphincter". *Journal of Physiology*, V. 42, 1911, pp. 93—106.
6. E. P. Cathcart. „Reflux from intestine to stomach". *Journ. of Physiol.*, V. 42, 1911, pp. 433—438.
7. Virg. Ducceschi. „Sulle funzioni motrici dello stomaco". *Archivio per le scienze mediche*, Vol. XXI, 1897, p. 121—189.
8. F. Hofmeister und E. Schütz. „Ueber die automatischen Bewegungen des Magens". *Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmak.*, Bd. 20, 1886, S. 1—33.

9. Rudolf Kaufmann. „Zum Mechanismus der Magenperistaltik". *Wiener Med. Wochenschr.*, 55 Jahrgang, 1905, № 32, S. 1581—1585.

10. L. S. Katznelson. „L'excitabilité reflexe normale et pathologique de la muqueuse duodénale". Thèse. St. Petersbourg 1904.

11. G. Kelling. „Zur Chirurgie der chronischen nicht malignen Magenleiden". *Arch. f. d. Verdauungskrankheiten*, Bd. VI. 1900, pp. 439—442.

12. Moritz. „Studien über die motorische Tätigkeit des Magens". *Zeitschr. f. Biologie*, Bd. 14, 1895, S. 313—369.

13. E. Nonn. Cité d'après Kaufmann (9).

14. A. J. Schemiakine. „La physiologie de la région pylorique de l'estomac du chien". Thèse. St. Petersbourg 1901 ou *Arch. d. Sc. Biol.* t. 10.

15. I. A. Edelmann. „Les mouvements de l'estomac et le passage du contenu de l'estomac dans l'intestin". Thèse. St. Petersbourg 1906.



La généralisation initiale et la spécialisation consécutive des excitants conditionnels cutanés.

(Laboratoire de Physiologie de l'Académie Impériale de Medecine Militaire.)

Par **P. Koupalov.**

Introduction.

En analysant les rapports complexes, qui existent entre l'animal et le monde extérieur, l'école du Prof. I. Pavlov a isolé un groupe spécial de réactions et l'a désigné par le terme des réflexes conditionnels. Par les réflexes conditionnels on entend les réactions de l'animal vis-à-vis des phénomènes du monde extérieur qui se réalisent par l'intermédiaire de l'écorce des grandes hémisphères et qui se sont formées au cours de la vie individuelle de l'animal et ont un caractère des phénomènes temporaires, non constants et peuvent par conséquent, suivant les circonstances, être inhibées, supprimées ou rétabliés.

En étudiant le mécanisme des réflexes conditionnels artificiels, c. a. d. des réflexes conditionnels provoqués expérimentalement, beaucoup de chercheurs ont constaté que pendant les premiers temps, à la formation d'un réflexe conditionnel à une excitation déterminée, l'animal répond d'une manière analogue à tout un groupe d'excitations ressemblant à celle qui a provoqué le réflexe en question. Ce fait a été observé habituellement lorsqu'on commençait à former la différenciation qui consiste en ceci que l'on tâche que la réaction de réponse corresponde à un excitant déterminé. On atteint la différenciation par ceci qu'une excitation est combinée avec un certain excitant inconditionnel, c. a. d. un excitant qui donne toujours la même réaction, tandis que les autres excitations ne sont pas accompagnées de ce réflexe inconditionnel. Au cas de réflexes conditionnels salivaires, tout de suite après le commencement de l'action de l'excitant à étudier, on donne à l'animal à manger ou on lui verse dans la bouche de l'acide chlorhydrique, tandis que, après l'action des autres excitants, on ne lui donne rien. De cette manière un excitant

déterminée devient l'excitant de la glande salivaire, tandis que les autres n'on pas d'influence sur la glande salivaire.

Suivant les constatations de différents auteurs, on atteint habituellement aisément la différenciation, c'est pourquoi on a tout à fait négligé l'étude du problème de la généralisation. Ce problème n'a pas été l'objet des études spéciales. Un auteur seulement M. Sneguirev[1]) a fait dans cette direction plusieurs expériences sur deux chiens. Chez un de ces chiens l'auteur a provoqué un réflexe conditionnel à l'excitation par les sons de 900 oscillations d'un tube d'orgue. Mais au début le chien répondait aussi par la même réaction distincte aux sons de 30.000 oscillations du sifflet de Galton. Dans la suite l'auteur a suivi la méthode suivante. On faisait sonner le son fondamental de 900 oscillations 5 à 8 fois par jour et dans des intervalles assez longs d'autres sons, on diminuait le nombre d'oscillations de ces sons à mesure que le nombre d'oscillations auxquelles l'animal répondait avec une réaction réflexe diminuait. L'animal ne recevait rien lorsqu'on produisait des sons autres que le son à 900 oscillations. De telle manière, après avoir fait coïncidé 332 fois le son à 900 oscillations avec une excitation de la glande salivaire, on n'obtenait plus de sécrétion de salive aux sons au nombre d'oscillations au dessus de 1200; ayant répété cette combinaison encore environ 100 fois on n'obtenait plus de réflexe qu'aux sons au nombre d'oscillations de 900 à 1012, c. a. d. dans les limites d'un seul ton. Dans l'expérience sur le second chien, l'auteur a suivi la voie inverse. Le réflexe devait être provoqué par un son à 30.000 oscillations. Mais au début le réflexe était fortement diffu set même un son à 50 oscillations a provoqué la sécrétion de salive. Puis, à la suite de la spécialisation du réflexe, lorsqu'on a fait coïncider le son fondamental 353 fois avec l'excitant de la glande salivaire, il n'y avait pas de réflexe aux sons au nombre d'oscillations au dessous de 20.000. Le nombre de sons actifs a ainsi diminué. Il faut faire remarquer que dans les deux cas l'auteur a essayé ou bien l'action des sons au nombre d'oscillations plus grand ou bien au nombre d'oscillations plus petit que le nombre d'oscillations du son fondamental, mais il n'a pas étudié la généralisation complète du réflexe.

Il suit du travail de Sneguirev que le réflexe conditionnel généralisé primitivement commence à se spécialiser par soi-même, sans qu'il y ait besoin de prendre à cet effet des mesures spéciales. Il fallait étudier ce problème d'une façon plus détaillée; il y avait des avantages à utiliser pour cette étude l'excitation de la peau de l'animal, parce que

1) I. Sneguirev. Contribution à l'étude de la théorie de Pavlov sur les réflexes conditionnels St. Petersbourg 1911.

dans ce cas il est commode de poursuivre la variation du nombre d'endroits de la peau dont l'excitation provoque la sécrétion de la salive. Il faut supposer que les cellules correspondantes de l'écorce du cerveau sont situées approximativement dans le même ordre que les points de la peau avec lesquels elles sont liées, c'est pourquoi en observant la peau, nous pouvons suivre le déplacement des processus nerveux dans l'écorce du cerveau.

Technique et expériences personnelles.

Le but de nos recherches était d'étudier, comment agit l'excitation de la peau sur la sécrétion de la salive après la première formation d'un réflexe conditionnel salivaire à l'excitation d'une portion déterminée de la peau et quels changements cette action subit à mesure que le réflexe fondamental s'affermit.

En ce qui concerne la technique à suivre, il fallait, ayant un réflexe à l'excitation d'une portion déterminée de la peau, essayer, tour à tour, d'autres portions, et ces essais devaient rester indifférents, c. a. d. ils ne devaient pas influencer la manière dont ces nouvelles portions se comportent vis-à-vis de la glande salivaire. C'est pourquoi, en essayant différentes portions de la peau, pour ne pas former artificiellement un réflexe diffus, nous n'avions pas droit de faire accompagner ces essais d'une excitation inconditionnelle; mais, d'autre part, nous ne pouvions pas ne pas le faire, parce que cela aurait conduit à la formation d'une différenciation. Malheureusement, dans ce cas il n'y a pas de troisième solution; c'est pourquoi nous avons choisi dans notre travail la méthode dans laquelle, en essayant une nouvelle portion, on faisait une fois accompagner l'essai d'une excitation inconditionnelle, l'autre fois non. Nous avons pensé que, dans ces conditions, on peut garder un certain équilibre et il n'y a pas de raisons que la peau de l'animal entre en communication avec le centre du réflexe inconditionnel ni qu'elle rompe avec lui. Nous verrons plus bas, si nos suppositions étaient justifiées.

Nous avons utilisé pour nos expériences quatre chiens qui n'ont pas eu de réflexes conditionnels de la peau auparavant. On déterminait la grandeur du réflexe chez tous les chiens d'après la sécrétion de la parotide. Dans toutes les expériences nous avons suivi le même système de travail.

La première série d'expériences a été faite sur un chien de basse cour qui répondait à l'appel „Rok". D'abord nous avons tâché d'obtenir un réflexe conditionnel aux piqûres au milieu de la cuisse gauche, en faisant accompagner l'excitation de l'introduction de nourriture. Mais l'animal ayant manifesté un certain état de torpeur, nous avons abandonné, après l'avoir fait 268 fois, l'introduction des aliments et nous avons pris comme excitation inconditionnelle l'excitation par l'acide

chlorhydrique. La portion de la peau qui devait subir l'excitation est restée la même. Après avoir fait accompagner la piqûre de la peau 53 fois de l'excitation de la glande salivaire par de l'acide à 0,25 p. 100 nous avons obtenu un réflexe dont l'estimation quantitative était la suivante: 4 à 5 gouttes de salive correspondaient à une demi-minute de l'action de l'appareil à piquer; nous avons commencé alors les expériences. Le chien restait tout le temps assis. Lorsqu'on commençait à le piquer, il se levait, tournait la tête, remuait les pattes, claquait des lèvres, se léchait, criait parfois et hérissait le poil. Cela se répétait de la même manière pendant tout le temps du travail.

Les expériences ont été conduites de la manière suivante. Pendant plusieurs jours sans interruption on essayait des nouvelles portions de la peau (chaque jour une) à des distances différentes et dans le même intervalle après l'essai précédent de la portion fondamentale. Ensuite suivait une interruption pendant laquelle on affermissait le réflexe de la portion fondamentale à la cuisse gauche et puis une nouvelle série d'expériences avec l'essai des nouvelles portions; il faut ajouter que chaque portion de la peau n'était essayée qu'une fois.

Nous citons plus bas les procès-verbaux des expériences. Dans la colonne: „Rapport en %“ nous donnons la grandeur du réflexe de la nouvelle portion par rapport au réflexe précédent de la portion fondamentale. Dans la colonne 5 nous indiquons la distance en centimètres de la nouvelle portion par rapport à la portion principale (fondamentale)[1]).

Tableau I. „Rok“.

Excitant inconditionnel: acide à 0,25 p. 100.

Quand l'expérience a commencé?	Grandeur du réflexe conditionnel en gouttes. Durant les premières 30 sec.	Durant les secondes 30 sec.	Rapport en %.	Endroit excité de la peau.	L'excitation de la nouvelle portion a-t-elle été ou non accompagnée d'une excitation inconditionnelle?	Période latente en secondes.	Nombre de fois où l'excitation de la portion principale a été accompagnée d'une excitation inconditionnelle.	Observations.
1	2	3	4	5	6	7	8	9
				1914 29/I.				
2 h. 38 m.	1 g.	—	—	princip. (cuisse gauche)	—	24	53	—
2 h. 48 m.	3 g.	—	—	princip.	—	20	54	—

1) Nous désignons par le terme de la portion principale (ou fondamentale) la portion de la peau dont nous formons le réflexe conditionnelle.

Tableau I (suite).

1	2	3	4	5	6	7	8	9
2 h. 55 m.	4 g.	—	—	princip.	—	18	55	—
3 h. 10 m.	4 g.	3 g.	100%	№ 1 omoplate gauche 44 cm.	non	20	—	Le chien s'est levé, regarde l'appareil à piquer et le touche par le museau.
3 h. 25 m.	0	—	—	princip.	—	—	56	Stupéfait. Il n'y a pas de réaction négative.
3 h. 37 m.	3 g.	—	—	princip.	—	22	57	—
				30/I.				
3 h. 50 m.	0	—	—	princip.	—	—	58	Réaction motrice négative, très forte.
4 h.	1 g.	—	—	princip.	—	26	59	—
4 h. 13 m.	2 g.	—	—	princip.	—	23	60	—
4 h. 28 m.	0	—	0%	№ 2 la tête 65 cm.	oui	—	—	Est inquiet, sécoue la tête.
4 h. 37 m.	9 g.	—	—	princip.	—	16	61	—
4 h. 57 m.	5 g.	—		princip.	—	19	62	—
				31/I.				
1 h. 58 m.	0	—	—	princip.	—	—	63	—
2 h. 5 m.	5 g.	—	—	princip.	—	20	64	—
2 h. 20 m.	6 g.	5 g.	100%	№ 3 côté gauche 25 cm.	non	20	—	Est tranquille, ne claque pas de lèvres.
2 h. 37 m.	0	—	—	princip.	—	—	65	—
2 h. 46 m.	2 g.	—	—	princip.	—	25	66	Forte réaction motrice.
3 h. 3 m.	2 g.	—	—	princip.	—	23	67	—
3 h. 12 m.	8 g.	—	—	princip.	—	14	68	—
				1/II.				
3 h. 25 m.	5 g.	—	—	princip.	—	18	69	—
3 h. 40 m.	0	—	0%	№ 4 cou, à gauche 47 cm.	oui	—	—	Reste assis, indifférent.
3 h. 52 m.	6 g.	—	—	princip.	—	15	70	—
3 h. 59 m.	7 g.	—	—	princip.	—	14	71	—
4 h. 20 m.	6 g.	—	—	princip.	—	16	72	—
				11/II.				
2 h. 55 m.	8 g.	—	—	princip.	—	10	116	—

Tableau I (suite).

1	2	3	4	5	6	7	8	9
3 h. 10 m.	2 g.	0	25%	№ 5 omoplate droit 67 cm.	non	15	—	Est assis tranquillement. A tourné la tête à droite.
3 h. 27 m.	0	—	—	princip.	—	—	117	Faible réaction négative.
3 h. 40 m.	5 g.	—	—	princip.	—	14	118	—
3 h. 47 m.	6 g.	—	—	princip.	—	14	119	—
				12/II.				
3 h. 27 m.	6 g.	—	—	princip.	—	16	120	—
3 h. 42 m.	7 g.	—	—	princip.	—	15	121	—
3 h. 57 m.	2 g.	—	29%	№ 6 cuisse droite 50 cm.	oui	15	—	Est assis tranquillement. La deux. goutte est tombée après 27 secondes.
4 h. 8 m.	11 g.	—	—	princip.	—	13	122	Crie.
4 h. 25 m.	6 g.	—	—	princip.	—	18	123	—
				13/II.				
3 h. 45 m.	4 g.	—	—	princip.	—	20	124	—
3 h. 53 m.	6 g.	—	—	princip.	—	17	125	—
4 h. 5 m.	8 g.	—	—	princip.	—	8	126	—
4 h. 20 m.	0	0	0%	№ 7 côté droit 55 cm.	non	—	—	Est assis.
4 h. 25 m.	4 g.	—	—	princip.	—	18	127	—
4 h. 40 m.	8 g.	—	—	princip.	—	14	128	—
				14/II.				
3 h. 55 m.	6 g.	—	—	princip.	—	20	129	—
4 h. 8 m.	7 g.	—	—	princip.	—	15	130	—
4 h. 23 m.	0	—	0%	№ 8 cou, à droite 70 cm.	oui	—	—	Est assis. L'acide s'écoule de la bouche par un jet.
4 h. 38 m.	8 g.	—	—	princip.	—	14	131	—
				20/II				
3 h. 55 m.	6 g.	—	—	princip.	—	12	150	—
4 h. 10 m.	0	0	0%	№ 9 dos 40 cm.	non	—	—	Il n'y a pas de réaction.
4 h. 16 m.	6 g.	—	—	princip.	—	15	15	—
				22/II.				
3 h. 57 m.	4 g.	—	—	princip.	—	20	152	—
4 h. 5 m.	7 g.	—	—	princip.	—	14	153	—

Tableau I (suite).

1	2	3	4	5	6	7	8	9
4 h. 20 m.	6 g.	—	85%	№ 10 cuisse gauche 10 cm.	oui	15	—	Se lève.
4 h. 30 m.	6 g.	—	—	princip.	—	16	154	—
				24/II.				
3 h. 41 m.	3 g.	—	—	princip.	—	20	155	—
3 h. 56 m.	13 g.	—	—	princip.	—	10	156	—
4 h. 3 m.	20 g.	—	—	princip.	—	10	157	—
4 h. 18 m.	5 g.	7 g.	25%	№ 11 épaule gauche 50 cm.	non	10	—	Faible réaction négative, est assis.
4 h. 28 m.	12 g.	—	—	princip.	—	12	158	—
				26/II.				
3 h. 30 m.	5 g.	—	—	princip.	—	18	159	—
3 h. 40 m.	8 g.		—	princip.	—	16	160	—
3 h. 55 m.	0	— —	0%	№ 12 avant-bras gauche 58 cm.	oui	—	—	Est assis.
4 h. 10 m.	12 g.	—	—	princip.	—	13	161	—
				1/III.				
2 h. 22 m.	7 g.	—	—	princip.	—	17	174	—
2 h. 37 m.	2 g.	2 g.	29%	№ 13 jambe gauche 16 cm.	non	23	—	Est assis.
2 h. 45 m.	0	—	—	princip.	—	—	175	—
3 h. 3 m.	8 g.	—	—	princip.	—	14	176	—
				3/III.				
2 h. 46 m.	11 g.	—	—	princip.	—	9	177	—
2 h. 52 m.	11 g.	—	—	princip.	—	8	178	—
3 h. 7 m.	16 g.	—	100%	№ 14 tarse gauche 32 cm.	oui	8	—	Se lève brusquement, secoue la patte.
3 h. 17 m.	10 g.	—	—	princip.	—	10	179	—
				4/III.				
3 h. 5 m.	14 g.	—	—	princip.	—	9	180	—
3 h. 20 m.	0	0	0%	№ 15 carpe gauche 11 cm.	non	—	—	Est assis.
3 h. 35 m.	12 g.	—	—	princip.	—	10	181	—

Tableau I (suite).

1	2	3	4	5	6	7	8	9
				5 III.				
3 h. 10 m.	10 g.	—	—	princip.	—	11	182	—
3 h. 25 m.	10 g.	—		princip.		10	183	—
[illegible] h. [illegible]2 m.	9 g.	—	—	princip.		11	184	
3 h. 47 m.	1 g.	—	11%	№ 16 jambe droite 70 cm.	oui	25	—	Est assis.
4 h. — m.	8 g.	—	—	princip.	—	13	185	
				6 III.				
[illegible] 2 m.	8 g.	—	—	princip.	—	13	186	—
5 m.	14 g.	—	—	princip.	—	8	187	—
[illegible] m.	1 g.	3 g.	7%	№ 17 jambe droite 82 cm.	non	27	—	Est assis.
16 m.	14 g.	—	—	princip.	—	9	188	—
				10 III.				
2 h. 20 m.	15 g.	—	—	princip.	—	6	200	—
2 h. 35 m.	2 g.	—	13%	№ 18. bassin gauche 10 cm.	oui	27	—	Est assis tranquillement.
2 h. 40 m.	17 g.	—	—	princip.	—	5	201	—
				11/III.				
2 h. 40 m.	14 g.	—	—	princip.	—	6	202	—
2 h. 48 m.	15 g.	—	—	princip.	—	8	203	—
3 h. 3 m.	10 g.	6 g.	67%	№ 19 cuisse gauche 7 cm.	non	10	—	Est assis tranquillement.
3 h. 18 m.	14 g.	—	—	princip.	—	12	204	—
				12 III.				
3 h. 5 m.	11 g.	—	—	princip.	—	12	205	—
3 h. 20 m.	9 g.	—	—	princip.	—	15	206	—
3 h. 26 m.	15 g.	—	—	princip.	—	8	207	—
3 h. 41 m.	0	—	0%	№ 20 aine gauche 8 cm.	oui	—	—	Est assis.
3 h. 51 m.	17 g.	—	—	princip.	—	8	208	-

Tableau I (suite).

1	2	3	4	5	6	7	8	9
				13/III.				
2 h. 40 m.	13 g.	—	—	princip.	—	8	209	—
2 h. 55 m.	0	1 g.	0%	№21 cuisse gauche (surf. intér.) 16 cm.	non	40	—	Est assis.
3 h. 15 m.	15 g.	—	—	princip.	—	6	210	—
				14/III.				
2 h. 32 m.	11 g.	—	—	princip.	—	15	211	—
2 h. 40 m.	16 g.	—	—	princip.	—	8	212	—
2 h. 55 m.	11 g.	—	69%	№ 22 cuisse gauche 5 cm.	oui	12	—	Se lève, crie, puis s'assied.
3 h. 12 m.	15 g.	—	—	princip.	—	10	213	—

Les données de ce tableau montrent que le fait de faire accompagner ou de ne pas faire accompagner l'excitation de la nouvelle portion d'un réflexe inconditionnel n'a aucune influence sur le résultat de l'essai suivant, et la grandeur du réflexe dépend de la position de la portion de la peau que l'on essaie. Toutes les portions éloignées ont donné un zéro, les portions situées plus près 2 à 4 gouttes et enfin les portions situées très près ont donné un réflexe qui se distingue peu du réflexe qui suit l'excitation de la portion fondamentale. A mesure que le nombre d'expériences augmentait, la région active de la peau, dont l'excitation donnait de la salive, diminuait, le réflexe se spécialisant peu à peu. Comme preuve démonstrative justifiant notre technique citons l'exemple suivant. Dans des cas, où l'excitation de nouvelles portions a été accompagnée de réflexes inconditionnels, nous avons obtenu à l'excitation de ces portions pendant les jours suivants dans 7 expériences en tout 30 gouttes, tandis que dans des cas, où l'excitation n'a pas été accompagnée d'un réflexe inconditionnel, nous avons obtenu dans 6 expériences en tout 38 gouttes.

Il est clair que notre technique n'a pas violé le tableau réel et qu'il ne s'agit pas de différenciations passagères, molles. Mais il y a pourtant des objections qui doivent être prises en considération. En créant à l'essai des nouvelles portions dans l'écorce du cerveau tantôt des foyers d'excitation, tantôt des foyers d'inhibition, nous avons pu influencer la marche de la concentration consécutive du réflexe conditionnel diffus. La concentration a pu être accélerée ou arrêtée suivant le cas, où c'étaient les processus d'inhibition ou d'excitation qui ont pris

le dessus. Mais sous ce rapport nous n'avons pas de données exactes; nous pouvons seulement affirmer que notre technique ne restait pas indifférente et qu'elle retentissait du moins sur l'état du système nerveux durant les premières minutes, qui suivaient l'excitation. On voit ainsi qu'après l'essai d'une nouvelle portion la grandeur du réflexe provoqué par l'excitation de la portion principale changeait d'une manière bien prononcée. Si nous obtenions de la salive à l'excitation de nouvelles portions et nous ne versions ensuite d'acide, nous n'obtenions pas ensuite de salive à l'excitation de la portion principale. Seulement dans les dernières expériences le réflexe a gardé sa grandeur habituelle aussi dans ces conditions. Si l'excitation des nouvelles portions ne provoquait pas de sécrétion de salive et on ne versait pas d'acide, le réflexe provoqué par l'excitation de la portion principale ne subissait pas de changements. Si nous obtenions la sécrétion de la salive à l'excitation des nouvelles portions et si nous accompagnions cette excitation d'un réflexe inconditionnel, le réflexe suivant provoqué par l'excitation de la portion principale était plus accentué, mais à la fin des expériences on n'observait plus cette influence. Enfin, s'il n'y avait pas de salive à l'essai des nouvelles portions et on versait de l'acide, la différence entre le réflexe précédent et suivant à l'excitation de la portion principale était peu considérable, bien qu'on observât une augmentation en ce qui concerne le dernier réflexe. Nous citons les tableaux.

Tableau II.

A. On a obtenu de la salive à l'excitation des nouvel. portions, on n'a pas fait emploi de l'excitation inconditionnelle (+ —).				B. On n'a pas obtenu de salive à l'excitation d. nouvelles portions, on n'a pas fait emploi de l'excitation inconditionnelle (— —).				C. On a obtenu de la salive à l'excitation d. nouvelles portions, on a fait emploi de l'excitation inconditionnelle (+ +).				D. On n'a pas obtenu de salive à l'excitation d. nouvelles portions, on a fait emploi de l'excitation inconditionnelle (— +).			
№ de l'expérience.	Grandeur du réflexe précédent (à l'excitation de la portion principale) en gouttes.	Nombre de gouttes à l'essai de la nouvelle portion.	Grandeur du réflexe suivant (à l'excitation de la portion principale) en gouttes.	№ de l'expérience.	Grandeur du réflexe précédent (à l'excitation de la portion principale) en gouttes.	Nombre de gouttes à l'essai de la nouvelle portion.	Grandeur du réflexe suivant (à l'excitation de la portion principale) en gouttes.	№ de l'expérience.	Grandeur du réflexe précédent (à l'excitation de la portion principale) en gouttes.	Nombre de gouttes à l'essai de la nouvelle portion.	Grandeur du réflexe suivant (à l'excitation de la portion principale) en gouttes.	№ de l'expérience.	Grandeur du réflexe précédent (à l'excitation de la portion principale) en gouttes.	Nombre de gouttes à l'essai de la nouvelle portion.	Grandeur du réflexe suivant (à l'excitation de la portion principale) en gouttes.
1	4	4	0	7	8	0	4	6	7	2	11	2	2	0	9
3	5	6	0	9	6	0	6	10	7	6	6	4	5	0	6
5	8	2	0	15	14	0	12	14	11	16	10	8	7	0	8
11	20	5	12	21	13	0	15	16	9	1	8	12	8	0	12
13	7	2	0	—	—	—	—	18	15	2	17	20	15	0	17
17	14	1	14	—	—	—	—	22	16	11	15	—	—	—	—
19	15	10	14	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Il y a un intérêt d'analyser ces faits d'une manière plus détaillée. En effet, si à l'essai des nouvelles portions on obtient de la salive, ces portions sont, par conséquent, liées avec la glande salivaire. Nous avons ici évidemment le phénomène suivant: le processus d'excitation se répand par irradiation du centre cortical de la portion principale aux centres des portions voisines, et ensuite tout ce qui a été excité se trouve lié à la réaction de la sécrétion de la salive, grâce a ce que les excitations cutanées sont accompagnées d'une excitation inconditionnelle de la glande salivaire. Les portions voisines de la peau, ainsi que la portion principale fonctionnent ainsi par rapport à la salive de la même manière, bien qu'avec une force differente. L'influence peut se manifester aussi d'une manière inverse. Le fait que l'excitation de la nouvelle portion qui est liée avec la glande salivaire n'est pas accompagnée d'une excitation inconditionnelle entraîne le développement d'un processus d'inhibition, et ce processus en se répandant embrasse aussi les cellules du cerveau qui perçoivent les excitations de notre portion principale. Cela a pour résultat l'arrêt complet ou partiel du réflexe suivant provoqué par l'excitation de la portion principale. Il est intéressant de citer aussi les expériences 2 et 6, dans lesquelles l'excitation des nouvelles portions a été accompagnée d'une excitation inconditionnelle. Dans ce cas le réflexe du côté de la portion principale suivant l'essai de la portion nouvelle a été accentué d'une manière très prononcée. Nous avons obtenu des chiffres que nous n'avons jamais observé habituellement, la grandeur du réflexe à l'excitation de la portion principale ayant été très stable et ayant augmenté peu à peu et régulièrement sans sauts brusques durant le jour de l'expérience. On peut expliquer ce phénomène de la manière suivante. Lorsque nous accompagnions l'excitation d'une nouvelle portion d'un réflexe inconditionnel, nous établissions un lien entre cette portion et le centre d'excitation par l'acide. Essaynt ensuite la portion principale, nous provoquions un processus d'excitation qui embrassait aussi le centre de la portion que l'on venait d'exciter et qui, rencontrant ici les traces de l'excitation passée, se dirigeait par le trajet qu'il venait de parcourir vers le centre de la sécrétion de la salive. Le centre de la sécrétion subissait ainsi la double action: l'action du côté du centre de la portion principale et l'action du côté de la nouvelle portion, c'est pourquoi le réflexe a pu atteindre une grandeur extraordinaire. Nous ne voulons pas affirmer que c'est sûrement de telle manière que les choses se passent, mais on a droit de faire une telle supposition.

Les deux faits suivants sont pour nous particulièrement importants. Le premier fait consiste en ceci qu'avec le temps, indépendamment de notre action, la grandeur du réflexe, à l'excitation de la portion principale,

suivant l'excitation de la portion nouvelle restait égale à la grandeur du réflexe précédent. L'autre fait particulièrement intéressant est qu'aux cas où à l'essai d'une nouvelle portion — qu'il soit ou non accompagné d'une excitation inconditionnelle — il n'y avait pas de réflexe (zéro), le réflexe suivant à l'excitation de la portion principale ne changeait pas et il n'y avait pas d'inhibition successive. Ces faits seront analysés plus bas, lorsque nous parlerons du mécanisme de la spécialisation graduelle des réflexes généralisés.

Il résulte ainsi de nos expériences qu'après la formation d'un réflexe conditionnel à l'excitation d'une portion déterminée de la peau, ce réflexe a le caractère d'un réflexe généralisé, c. a. d. qu'une certaine région de la peau se trouve liée à la réaction de réponse, qui devait être caractéristique de la portion principale de la peau plus limitée. Il faut faire remarquer que pas tous les endroits de la peau sont liés de la même manière: les endroits éloignés sont liés très faiblement, les endroits situés plus près plus fortement et les endroits situés très près sont liés presque de la même manière que la portion dont on a formé le réflexe. De telle manière les choses se passent au début. Plus tard après la répétition réitérée du réflexe fondamental le lien de la peau commence à se spécialiser, et la région active diminue, se concentrant autour de la portion principale.

A ce point de vue est démonstratif le tableau, où nous citons les expériences par groupes et où nous donnons les distances des nouvelles portions par rapport à la portion principale et les grandeurs des réflexes obtenus à l'essai de ces portions. La grandeur de ces réflexes est exprimée en % par rapport à la grandeur du réflexe à l'excitation précédente de la portion principale.

Tableau III. „Rok".

1ière groupe d'expériences.			2ième groupe d'expériences.			3ième groupe d'expériences.			4ième groupe d'expériences.			5ième groupe d'expériences.		
№ de l'expérience.	Dist. par rapport à la port. princip. en cm.	Grandeur du réflexe en %%.	№ de l'expérience.	Dist. par rapport à la port. princip. en cm.	Grandeur du réflexe en %%.	№ de l'expérience.	Dist. par rapport à la port. princip. en cm.	Grandeur du réflexe en %%.	№ de l'expérience.	Dist. par rapport à la port. princip. en cm.	Grandeur du réflexe en %%.	№ de l'expérience.	Dist. par rapport à la port. princip. en cm.	Grandeur du réflexe en %%.
3	25	100	6	50	29	10	10	85	13	16	29	22	5	69
1	44	100	7	55	0	9	40	0	14	32	100	19	7	67
4	47	0	5	67	25	11	50	25	15	68	0	20	8	0
2	65	0	8	70	0	12	58	0	16	70	11	18	10	13
—	—	—	—	—	—	—	—	—	17	82	7	21	16	0

On voit ainsi qu'au début une portion à une distance de 44 cm. donne un réflexe de 100 %, tandis qu'à la fin une portion à une distance de 5 cm. ne donne que 69 % de salive obtenue à l'essai de la portion principale et la portion à une distance de 16 cm. ne donne rien. Le réflexe généralisé primitivement s'est considérablement spécialisé actuellement, son champ d'action s'est limité, la spécialisation se faisant graduellement et infailliblement. Certes, il ne s'agit pas ici d'exactitude mathématique, et il faut juger le phénomène dans son ensemble. Un réflexe de dix gouttes à l'excitation de la portion principale est déjà consideré comme un réflexe assez fort et une goutte obtenue à l'essai d'une nouvelle portion, qui pouvait apparaitre aussi accidentellement, fait déjà 10 %. C'est pourquoi on doit considérer les nombres comme des grandeurs approximatives. Néanmoins plusieurs expériences demandent des explications spéciales. Dans l'expérience № 11 nous avons obtenu à l'essai d'un endroit très éloigné un réflexe de 25 %, mais ce jour-ci le chien était particulièrement excité, et le réflexe à l'essai de la portion principale était très grand (20 gouttes), tandis que durant cette période il n'atteignait habituellement que 7 à 10 gouttes. Puis, dans l'expérience № 14 à l'excitation du tarse gauche nous avons obtenu aussi un réflexe très élévé (plus de 100 %), mais dans ce cas il s'agissait probablement de la pression de la rondelle à piquer sur l'os qui a joué le rôle d'un excitant destructeur. La réaction motrice était dans ce cas singulière. L'animal s'est levé brusquement et a commencé à secouer la patte. En général, à l'essai des portions de la peau aux extremités, où la rondelle à piquer se trouvait près des os, nous avons obtenu des réflexes d'une grandeur plus considérable que l'on pouvait s'y attendre. Il y a encore un fait intéressant. On obtenait aussi de la salive à l'excitation de la peau au côté opposé du corps. Les centres corticaux de la peau de l'autre moitié du corps se trouvent, comme on sait, dans l'autre hémisphère. Le processus d'irradiation se répandent évidemment non seulement par les fibres associatives courtes d'une cellule à l'autre, mais aussi par les longues voies de la substance blanche du cerveau. Dans le dernier cas le processus se répand probablement, à un certain degré, d'une manière élective et ne se dirige pas avec la plus grande énergie vers les points les plus proches. Sous ce rapport il existe évidemment des lois qui méritent une étude détaillée. M-lle Degtiarev [1]), en étudiant l'inhibition successive, a constaté que les réflexes qui ont été essayés avant que l'autre réflexe commençait à s'éteindre subissaient l'inhibition successive au plus haut degré.

1) V. Degtiarev, Contribution à la physiologie de l'inhibition interne. Thése St. Petersbourg 1914.

Le système nerveux a ainsi la propriété de lier de la manière la plus intime les points de l'écorce du cerveau qui ont déjà fonctionné de la même manière. Le processus d'irradiation par l'intermédiaire duquel on envoie des signaux dans les portions les plus éloignées des grandes hémisphères sur ce qui se passe à un de leurs points informe manifestement tout d'abord les endroits liés avec la reaction de réponse qui doit être provoquée par le nouveau processus qui a lieu au moment donné dans les grandes hémisphères. Si les choses se passent de telle manière, on comprend que beaucoup de points de la peau bien que leurs centres se trouvent dans une autre hémisphère, seront informés et entraînés dans le processus d'excitation ou d'inhibition avant et d'une façon plus forte que certains endroits ayant des centres dans la même hémisphère. En outre, il faut prendre en considération encore la longue expérience du systéme nerveux de l'animal, son entraînement dans un sens déterminé et l'existence des liens fermes entre des portions déterminées de la peau. M. Krasnogorsky[1]), par exemple, a constaté qu'au cas où on provoque artificiellement des réflexes à un certain endroit de la peau, les endroits symétriques du côté opposé du corps de l'animal agissent dans le même sens. Il est clair que nous avons ici affaire aux liens conditionnels variés qui se sont formés au cours de la vie de l'animal. Tout cela complique considérablement le problème de nos recherches, mais ne nous fait pas perdre l'espoir de trouver des régles.

Le deuxiéme animal qui nous a servi dans nos expériences était la chienne „Ada". Chez „Ada", ainsi que chez „Rok", on provoquait le réflexe en piquant la cuisse gauche. L'acide chlorhydrique à 0,2 p. 100 servait d'excitant inconditionnel. Pendant les expériences l'animal n'était pas immobilisé. Il restait pour la plupart assis, mais pas toujours. Si la chienne était assise, elle se levait toujours lorsqu'on commençait à piquer la peau. Dans les intervalles entre les expériences l'animal glapissait, baîllait. A l'essai de la portion principale il levait la tête en haut, se tournait parfois de l'expérimentateur et remuait énergiquement les mâchoires. Ce n'est qu'aprés tout cela que la salive commençait à couler. Le réflexe s'est formé chez „Ada" azzez vite; après, avoir fait accompagner 46 fois l'excitation du réflexe inconditionnel, nous avons eu un réflexe constant de 5 à 6 gouttes et nous avons commencé les expériences dont nous citons les procés — verbaux.

---

1) N. Krasnogorsky. Sur le processus de l'inhibition et sur la localisation des analysateurs cutané et moteur dans l'écorce des grandes hémisphères chez le chien. Thése St. Petersbourg 1915.

Tableau IV. „Ada".
Excitant inconditionnel: acide à 0,2 p. 100.

Quand l'expérience a commencé?	Grandeur du réflexe conditionnel en gouttes. Durant les premières 30 sec.	Durant les secondes 30 sec.	Rapport en %.	Endroit excité de la peau.	L'excitation de la nouvelle portion a-t-elle été ou non accompagnée d'une excitation inconditionnelle?	Période latente en secondes.	Nombre de fois où l'excitation de la portion principale a été accompagnée d'une excitation inconditionnelle.	Observations.
1	2	3	4	5	6	7	8	9
				3/III 1914.				
2 h. 32 m.	2 g.	—	—	princip. cuisse gauche	—	18	46	—
2 h. 39 m.	7 g.	—	—	princip.	—	12	47	—
2 h. 51 m.	0	0	0%	№ 1 tête 90 cm.	non	—	—	Secoue la tête.
2 h. 56 m.	3 g.	—	—	princip.	—	17	48	—
3 h. 8 m.	4 g.	—	—	princip.	—	15	49	—
				1/IV.				
3 h. 57 m.	2 g.	—	—	princip.	—	20	50	—
4 h. 12 m.	2 g.	—	—	princip.	—	21	51	—
4 h. 20 m.	5 g.	—	—	princip.	—	16	52	—
4 h. 32 m.	1 g.	—	20%	№ 2 côté gauche 23 cm.	oui	24	—	Claque des lèvres; est assis.
4 h. 37 m.	9 g.	—	—	princip.	—	14	53	—
				2/IV.				
2 h. 35 m.	0 g.	—	—	princip.	—	—	54	—
2 h. 47 m.	2 g.	—	—	princip.	—	22	55	—
2 h. 57 m.	4 g.	—	—	princip.	—	18	56	—
3 h. 9 m.	1 g.	1 g.	25%	№ 3 cuisse gauche 10 cm.	non	28	—	Ne claque pas de lèvres. Est assis.
3 h. 14 m.	2 g.	—	—	princip.	—	20	57	—
				16/IV.				
1 h. 45 m.	0	—	—	princip.	—	—	103	—
1 h. 53 m.	7 g.	—	—	princip.	—	15	104	—
2 h. 3 m.	9 g.	—	—	princip.	—	15	105	—
2 h. 20 m.	9 g.	—	—	princip.	—	15	106	—
2 h. 32 m.	9 g.	—	100%	№ 4 bassin à gauche 18 cm.	oui	15	—	Claque des lévres. Se lève.
2 h. 46 m.	8 g.	—	—	princip.	—	16	107	—

Tableau IV (suite).

1	2	3	4	5	6	7	8	9
				17/IV.				
3 h. 15 m.	2 g.	—	—	princip.	—	18	108	—
3 h. 38 m.	5 g.	—	—	princip.	—	16	109	—
3 h. 50 m.	0	5 g.	0%	№ 5 omoplate gauche 52 cm.	non	34	—	Ne claque pas de lèvres, est assis.
3 h. 58 m.	1 g.	—	—	princip.	—	28	110	—
4 h. 10 m.	5 g.	—	—	princip.	—	15	111	—
				18/IV.				
1 h. 32 m.	5 к.	—	—	princip.	—	14	112	—
1 h. 34 m.	5 g.	—	100%	№ 6 côté gauche 33 cm.	oui	16	—	—
1 h. 52 m.	8 g.	—	—	princip.	—	10	113	—
				21/IV.				
2 h. 35 m.	3 g.	—	—	princip.	—	20	133	—
2 h. 50 m.	0 g.	—	—	princip.	—	—	134	On entend gratter u. souris. L'animal dresse les oreilles.
2 h. 59 m.	2 g.	—	—	princip.	—	22	135	—
3 h. 4 m.	5 g.	—	—	princip.	—	15	136	—
3 h. 16 m.	5 g.	11 g.	100%	№ 7 cuisse gauche 5 cm.	non	16	—	Réaction habituelle.
3 h. 22 m.	3 g.	—	—	princip.	—	18	137	—
3 h. 32 m.	6 g.	—	—	princip.	—	13	138	—
				22/IV.				
2 h. 35 m.	5 g.	—	—	princip.	—	16	139	—
2 h. 45 m.	8 g.	—	—	princip.	—	11	140	—
2 h. 57 m.	0	—	0%	№ 8 cou, à gauche 68 cm.	oui	—	—	Ne claque pas de lèvres.
3 h. 11 m.	7 g.	—	—	princip.	—	12	141	—
				24/IV.				
2 h. 30 m.	3 g.	—	—	princip.	—	12	142	—
2 h. 37 m.	6 g.	—	—	princip.	—	15	143	—
2 h. 49 m.	0	0	0%	№ 9 omoplate gauche 56 cm.	non	—	—	Est assis. Ne claque pas de lèvres.
2 h. 54 m.	3 g.	—	—	princip.	—	22	144	—
3 h. 6 m.	0	—	—	princip.	—	—	145	Un bruit fort derrière la porte. Le chien tremble.
3 h. 13 m.	7 g.	—	—	princip.	—	10	146	—

Tableau IV (suite).

1	2	3	4	5	6	7	8	9
				25/IV.				
2 h. 50 m.	6 g.	—	—	princip.	—	10	147	—
3 h. 2 m.	2 g.	—	33%	№ 10 ventre, à gauche 30 cm.	oui	26	—	Claque des lèvres à partir de la 24ième seconde.
3 h. 14 m.	8 g.	—	—	princip.	—	12	148	—
				26/IV.				
3 h. — m.	coïncid.	—	—	princip.	—	—	149	—
3 h. 10 m.	7 g.	—	—	princip.	—	10	150	—
3 h. 22 m.	0	4 g.	0%	№ 11 dos derrière 25 cm.	non	33	—	Claque des lèvres à partir de la 29ième seconde.
3 h. 30 m.	4 g.	—	—	princip.	—	18	151	—
3 h. 46 m.	coïncid.	—	—	princip.	—	—	152	—
				30/IV.				
2 h. 50 m.	coïncid.	—	—	princip.	—	—	170	—
3 h. 5 m.	6 g.	—	—	princip.	—	15	171	—
3 h. 12 m.	7 g.	—	—	princip.	—	14	172	—
3 h. 24 m.	6 g.	—	85%	№ 12 jambe gauche 16 cm.	oui	16	—	—
3 h. 34 m.	coïncid.	—	—	princip.	—	—	173	—
				1/V.				
2 h. 40 m.	7 g.	—	—	princip.	—	10	174	—
2 h. 52 m.	6 g.	7 g.	85%	№ 13 aine gauche 12 cm.	non	15	—	—
3 h. — m.	3 g.	—	—	princip.	—	20	175	—
3 h. 15 m.	coïncid.	—	—	princip.	—	—	176	—
				2/V.				
2 h. 57 m.	coïncid.	—	—	princip.	—	—	177	—
3 h. 9 m.	coïncid.	—	—	princip.	—	—	178	—
3 h. 25 m.	8 g.	—	—	princip.	—	10	179	—
3 h. 37 m.	4 g.	—	50%	№ 14 avant-bras gauche 70 cm.	oui	16	—	—
3 h. 45 m.	7 g.	—	—	princip.	—	11	180	—
3 h. 57 m.	coïncid.	—	—	princip.	—	—	181	—
				3/V.				
2 h. 3 m.	9 g.	—	—	princip.	—	10	182	—
2 h. 15 m.	0	0	0%	№ 15 dos par devant 57 cm.	non	—	—	Ne claque pas de lèvres durant la minute entière.

Tableau IV (suite).

1	2	3	4	5	6	7	8	9
2 h. 24 m.	6 g.	—	—	princip.	—	12	183	—
2 h. 37 m.	coïncid.	—	—	princip.	—	—	184	—
				7/V.				
2 h. 20 m.	coïncid.	—	—	princip.	—	—	200	—
2 h. 36 m.	7 g.	—	—	princip.	—	11	201	—
2 h. 48 m.	3 g.	—	43%	№ 16 cuisse gauche 10 cm.	oui	16	—	—
2 h. 58 m.	6 g.	—	—	princip.	—	12	202	—
3 h. 18 m.	coïncid.	—	—	princip.	—	—	203	—
				8/V.				
2 h. 40 m.	3 g.	—	—	princip.	—	20	204	—
2 h. 48 m.	8 g.	—	—	princip.	—	12	205	—
3 h. — m.	9 g.	—	—	princip.	—	5	206	—
3 h. 12 m.	0	4 g.	0%	№ 17 cuisse droite 50 cm.	non	32	—	Claque des lèvres a partir de la 31ième seconde.
3 h. 26 m.	5 g.	—	—	princip.	—	16	207	—
				9/V.				
2 h. 30 m.	7 g.	—	—	princip.	—	8	208	—
2 h. 45 m.	8 g.	—	—	princip.	—	7	209	—
2 h. 57 m.	1 g.	—	12%	№ 18 dos 45 cm.	oui	25	—	Ne claque pas de lèvres.
3 h. 5 m.	9 g.	—	—	princip.	—	7	210	—
3 h. 22 m.	coïncid.	—	—	princip.	—	—	211	—
				16/V.				
2 h. 38 m.	7 g.	—	—	princip.	—	7	231	—
2 h. 47 m.	9 g.	—	—	princip.	—	9	232	—
2 h. 59 m.	4 g.	7 g.	44%	№ 19 cuisse gauche 8 cm.	non	20	—	—
3 h. 11 m.	0	—	—	princip.	—	—	233	—
3 h. 15 m.	6 g.	—	—	princip.	—	14	234	—
				17/V.				
2 h. 28 m.	10 g.	—	—	princip.	—	10	235	—
2 h. 40 m.	0	—	0%	№ 20 tarse gauche 80 cm.	oui	—	—	Ne claque pas de lèvres.
2 h. 57 m.	10 g.	—	—	princip.	—	11	236	—

Tableau IV (suite).

1	2	3	4	5	6	7	8	9
				19/V.				
2 h. 25 m.	8 g.	—	—	princip.	—	13	237	—
2 h. 45 m.	9 g.	—	—	princip.	—	12	238	—
2 h. 57 m.	0	3	0%	№ 21 dos, derrière 30 cm.	non	35	—	Ne claque pas de lèvres.
3 h. 6 m.	7 g.	—	—	princip.	—	14	239	—
				20/V.				
3 h. 8 m.	8 g.	—	—	princip.	—	12	240	—
3 h. 20 m.	10 g.	—	—	princip.	—	10	241	—
3 h. 32 m.	5 g.	—	50%	№ 22 ventre derrière 16 cm.	oui	14	—	—
3 h. 40 m.	11 g.	—	—	princip.	—	7	242	—

Ainsi que l'on voit, nous avons essayé au début la tête, et nous avons obtenu un zéro absolu. Ensuite nous avons essayé, tour à tour, le côté gauche et la cuisse gauche, et nous avons obtenu dans les deux cas chaque fois une goutte. On avait l'impression que l'on était en présence d'une spécialisation assez prononcée du réflexe. Puis il suivait un intervalle de 2 semaines: l'animal a été entraîné avec le but d'affermir le réflexe principale, l'excitation de la portion principale a été 55 fois accompagnée du réflexe inconditionnel. Lorsque nous avons commencé de nouveau les essais des nouvelles portions, nous avons rencontré un phénomène qui nous a frappé d'abord. Nous avons obtenu notamment après 9 gouttes à l'excitation de l'endroit principal la même quantité de gouttes à l'excitation d'un endroit dans la région du bassin, situé à une distance de 18 cm., tandis qu'auparavant l'endroit № 3 à une distance de 10 cm. n'a donné qu'une goutte. Nous essayons alors l'omoplate gauche à une distance de 52 cm. et nous obtenons un zéro, nous essayons le côté gauche à une distance de 33 cm. et nous obtenons 5 gouttes, la même quantité qu'a donnée auparavant le réflexe à l'excitation de l'endroit principale. Il semblait ainsi que la région de la peau liée avec la réaction de la sécrétion de la salive qui était minime au début a augmenté d'étendue. L'affermissement du réflexe a conduit, par conséquent, non pas à la spécialisation du réflexe, mais, au contraire, à sa généralisation. Mais c'était seulement au début, puis a commencé la limitation régulière de la région active de la peau, et la marche du phénomène était dans son ensemble le même chez „Ada" que chez „Rok". Nous citons ci-dessous le tableau correspondant:

Tableau V. „Ada".

1ier groupe d'expériences.			2ième groupe d'expériences.			3ième groupe d'expériences.			4ième groupe d'expériences.			5ième groupe d'expériences.			6ième groupe d'expériences.		
№ de l'expérience.	Dist. par rapport à la port. princip. en cm.	Grandeur du réflexe en %%.	№ de l'expérience.	Dist. par rapport à la port. princip. en cm.	Grandeur du réflexe en %%.	№ de l'expérience.	Dist. par rapport à la port. princip. en cm.	Grandeur du réflexe en %%.	№ de l'expérience.	Dist. par rapport à la port. princip. en cm.	Grandeur du réflexe en %%.	№ de l'expérience.	Dist. par rapport à la port. princip. en cm.	Grandeur du réflexe en %%.	№ de l'expérience.	Dist. par rapport à la port. princip. en cm.	Grandeur du réflexe en %%.
3	10	25	4	18	100	7	5	100	13	12	85	16	10	43	19	8	44
2	23	20	6	33	100	11	25	0	12	16	85	18	45	12	22	16	50
1	90	0	5	52	0	10	30	33	15	57	0	17	50	0	21	30	0
—	—	—	—	—	—	9	56	0	14	60	50	—	—	—	20	70	0
—	—	—	—	—	—	8	68	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—

L'expérience № 14, dans laquelle d'un endroit très éloigné à l'omoplate gauche nous avons obtenu un réflexe de 50 $^0/_0$, au lieu du zéro que nous avons supposé, présente un certain intérêt. Il faut dire qu'à l'excitation des portions de la peau dans les régions des omoplates et des épaules on obtenait en général des chiffres élevés. Ce phénomène peut être probablement expliqué par les liens qui existent déjà chez les animaux entre certains endroits de la peau, mais il est difficile d'indiquer ici une cause déterminée d'une manière précise.

Ayant constaté chez „Ada" une forte sécrétion de la salive pendant les deuxiémes 30 secondes dans les cas où l'essai d'un nouvel endroit n'était pas accompagné de l'introduction d'acide, nous voulons nous arrêter à ce fait. Le chiffre brut du nombre de gouttes de salive durant une minute entière donne une idée beaucoup plus exacte du lien d'un certain endroit de la peau avec le centre de la sécrétion de salive. C'est pourquoi nous citons le tableau correspondant.

Tableau VI.

	№ de l'expérience.	Distance.	Quantité de salive. 30 sec.	30 sec.	Quant. totale en 1 min.
1ier groupe	1	90 cm.	0	0	0
	3	10 cm.	1 g.	1 g.	2 g.
2ième groupe	5	52 cm.	0	5 g.	5 g.
3ième groupe	7	5 cm.	5 g.	11 g.	16 g.
	11	25 cm.	0	4 g.	4 g.
	9	56 cm.	0	0	0

Tableau VI (suite).

	№ de l'expérience.	Distance.	Quantité de salive. 30 sec.	30 sec.	Quant. totale en 1 min.
4ième groupe	13	12 cm.	6 g.	7 g.	13 g.
	15	57 cm.	0	0	0
5ième groupe	17	50 cm.	0	4 g.	4 g.
6ième groupe	19	8 cm.	4 g.	7 g.	11 g.
	21	30 cm.	0	3 g.	3 g.

Comment expliquer la constatation, suivant laquelle le réflexe n'a pas été généralisé au début? Il y a des raisons à supposer que ce phénomène s'est manifesté d'une manière plus complète chez „Ada“, mais pas chez „Rok“. Chez celui-ci le réflexe à l'introduction de l'acide ne pouvait pas être considéré comme un réflexe nouveau, qui venait de se former, parce que, avant l'introduction de l'acide chlorhydrique, nous nous sommes servi de poudre de viande et de pain grillé comme d'un excitant inconditionnel, la portion de la peau excitée étant la même qu'à l'introduction de l'acide. Par conséquent le lien entre l'endroit principal et la réaction de la sécrétion de la salive pouvait être déjà stable chez „Rok“. Chez „Ada“ le réflexe était formé dés le début à l'aide de l'acide chlorhydrique, et nous avons commencé les expériences, lorsque le réflexe à l'excitation de la portion principale était en train de se former et n'était pas encore stable. A cause de cette instabilité du réflexe fondamental le lien entre la peau et la glande salivaire était manifestement peu ferme. Ce n'est que lorsque le réflexe fondamental est devenu plus fort que ce lien s'est accentué. La généralisation du réflexe n'apparaît pas évidemment d'emblée à la première formation du réflexe conditionnel, mais il existe un stade initial pendant lequel la généralisation se forme. Dans la formation du réflexe conditionnel on doit ainsi distinguer trois moments. Au début nous avons un réflexe limité. Ensuite se forme un réflexe diffus stable, enfin un réflexe limité de nouveau, peu diffus et spécialisé. En d'autres mots, dans la formation du réflexe conditionnel il y a deux phases: 1) la phase de la généralisation graduelle du réflexe 2) la phase de la spécialisation graduelle du réflexe, de la limitation de la sphere de son action.

Cette conception permet d'expliquer les opinions contradictoires que l'on trouve dans la bibliographie. Certains auteurs, par exemple, affirment que si l'on a formé un réflexe conditionnel à l'excitation d'une portion déterminée de la peau, les autres portions sont dés le début inactives c. a. d. que le réflexe cutané se localise par lui-même, sans avoir besoin de formation d'une différenciation. Les contigences suivantes

ont pu déterminer les résultats de ces expériences: 1) peut être a-t-on essayé les nouveaux endroits trop tôt, lorsque le lien généralisant n'était pas encore assez solide; 2) le hasard a pu faire tomber l'expérimentateur sur un endroit qui se trouvait trop loin de l'endroit principal et n'était pas compris dans la sphère de l'action du lien généralisant; 3) enfin l'expérimentateur a pu commencer l'essai des nouvelles portions au moment, où le réflexe s'est déjà spécialisé et où le lien même avec des portions proches de la peau n'existait plus. Dans tous ces cas il était impossible d'établir la généralisation du réflexe conditionnel.

Le troisième chien „Vampire", un vieil animal de laboratoire nous a servi peu de temps, parce qu'il était pris bientôt pour d'autres expériences. Nous avons choisi le milieu du dos comme endroit principal; nous nous sommes servi de poudre de viande et de pain grillé comme d'un excitant inconditionnel. Nous avons obtenu les résultats suivants:

Tableau VII. „Vampire".

Excitant inconditionnel: poudre de viande et de pain grillé.

Quand l'expérience a commencé.	Grandeur du réflexe conditionnelle en gouttes.		Rapport en %.	Endroit excité.	L'excitation de la nouvelle portion a-t-elle été accompagnée ou non d'une excitation inconditionnelle?	Période latente en secondes.	Nombre de fois où l'excitation de la portion principale a été accompagnée d'une excitation inconditionnelle.	Observations.
	Durant les premières 30 sec.	Durant les secondes 30 sec.						
1	2	3	4	5	6	7	8	9
				2/IV.				
3 h. 23 m.	3 g.	—	—	princip. — dos au milieu.	—	12	30	—
3 h. 35 m.	10 g.	—	—	princip.	—	7	31	—
3 h. 45 m.	1 g.	—	10%	№ 1 cou à droite 42 cm.	oui	27	—	—
3 h. 51 m.	7 g.	—	—	princip.	—	10	32	—
				3/IV.				
4 h. 55 m.	8 g.	—	—	princip.	—	8	33	—
5 h. 5 m.	5 g.	7 g.	62%	№ 2 côté, droit 21 cm.	non	16	—	—
5 h. 12 m.	0	—	—	princip.	—	—	34	—
5 h. 25 m.	6 g.	—	—	princip.	—	12	35	—

Tableau VII (suite).

1	2	3	4	5	6	7	8	9
				10/IV.				
1 h. 45 m.	4 g.	—	—	princip.	—	10	49	—
2 h. 2 m.	5 g.	—	—	princip.	—	8	50	—
2 h. 12 m.	4 g.	—	80%	№ 3 cuisse droite 21 cm.	oui	11	—	—
2 h. 18 m.	5 g.	—	—	princip.	—	9	51	—
				11/IV.				
4 h. — m.	3 g.	—	—	princip.	—	15	52	—
4 h. 15 m.	5 g.	—	—	princip.	—	12	53	—
4 h. 25 m.	5 g.	—	—	princip.	—	10	54	—
4 h. 35 m.	0	4 g.	0%	№ 4 jambe droite 43 cm.	non	31	—	—
4 h. 45 m.	1 g.	—	—	princip.	—	28	55	—
4 h. 53 m.	8 g.	—	—	princip.	—	8	56	—
				12/IV.				
1 h. 30 m.	7 g.	—	—	princip.	—	9	57	—
1 h. 40 m.	5 g.	—	71%	№ 5 dos, derrière 15 cm.	oui	13	—	—
1 h. 55 m.	9 g.	—	—	princip.	—	7	58	—
				13/IV.				
2 h. 22 m.	5 g.	—	—	princip.	—	9	59	—
2 h. 42 m.	6 g.	—	—	princip.	—	8	60	—
2 h. 50 m.	9 g.	—	—	princip.	—	7	61	—
3 h. — m.	2 g.	8 g.	22%	№ 6 épaule droite 33 cm.	—	17	—	—
3 h. 6 m.	4 g.	—	—	princip.	—	12	62	—
3 h. 16 m.	5 g.	—	—	princip.	—	10	63	—

Avec le quatrième chien, répondant à l'appel „Tchorny", nous avons travaillé à l'Institut de Médecine Expérimentale dans des conditions spéciales qui ont permis d'exclure l'influence de l'expérimentateur sur l'animal. Celui-ci se trouvant dans une chambre isolée, on plaçait à l'aide d'un mécanisme pneumatique la poudre de viande et de pain grillé sur une assiette se trouvant devant l'animal; on déterminait la quantité de la salivé d'après le mouvement d'une colonne de liquide. On faisait agir l'appareil à piquer à l'aide d'un mécanisme spécial, ce qui a permis d'atteindre une certaine uniformité en ce qui concerne la

force et la fréquence des excitations [1]. Nous avons déjà dit que nous nous sommes servi de poudre de viande et de pain grillé comme d'un excitant inconditionnel. Le milieu du dos a servi d'endroit d'excitation, l'appareil à piquer était placé un peu à droite de la colonne vertébrale.

Les résultats obtenus avec „Tchorny“ ont été analogues à ceux que nous avons obtenus avec les autres chiens. Il faut seulement signaler que la spécialisation du réflexe se faisait relativement lentement chez „Tchorny“. La vitesse avec laquelle ce processus se développe est, à ce qu'il paraît, différente chez différents animaux. Il y a aussi des raisons à supposer que, lorsqu'on se sert de substances alimentaires comme d'un excitant inconditionnel, il ne faut pas en faire d'emploi fréquent à l'excitation des portions nouvelles; cet excitant inconditionnel étant plus puissant que l'acide chlorhydrique, on risque que la généralisation du réflexe prenne le dessus. Telle est l'impression qui s'est formée chez nous comme résultat de l'observation de la conduite des animaux. Il aurait été plus juste de ne pas essayer si souvent des nouvelles portions de la peau, mais voulant garder l'identité complète avec les conditions des expériences sur les autres animaux, d'un côté, et n'ayant pas de temps à notre disposition, d'autre côte, nous n'avons pas pu le faire. Nous citons les procés-verbaux des expériences.

Tableau VIII. „Tchorny“.

Excitant inconditionnel: poudre de viande et de pain grillé.

Qnand l'expérince a commencé?	Grandeur du réflexe conditionnelle en divisions du tube.		Rapport en %.	Endroit excité.	L'excitation de la nouvelle portion a-t-elle été ou non accompagnée d'une excitation inconditionnelle.	Période latente en secondes.	Nombre de fois où l'excitation de la portion principale a été accompagnée d'une excitation inconditionnelle.	Observations.
	Durant les premières 30 sec.	Durant les secondes 30 sec.						
1	2	3	4	5	6	7	8	9
				1914 18/XI.				
4 h. 36 m.	coïncid.	—	—	princip. — dos au milieu	—	—	37	—
4 h. 50 m.	10 d.	—	—	princip.	—	18	38	—
4 h. 55 m.	20 d.	—	—	princip.	—	16	39	—
5 h. 5 m.	25 d.	—	—	princip.	—	10	40	—

1) On peut trouver une description détaillée de cette technique dans la thése de B. Kogan: „Sur l'irradiation et la concentration de l'inhibition dans l'écorce des grandes hémisphères“. St. Petersbourg 1914.

Tableau VIII (suite).

1	2	3	4	5	6	7	8	9
5 h. 17 m.	13 d.	19 d.	52%	№ 1 jambe droite 42 cm.	non	20	—	—
5 h. 34 m.	8 d.	—	—	princip.	—	8	41	—
5 h. 42 m.	23 d.	—	—	princip.	—	10	42	—
				19/XI.				
4 h. 48 m.	coïncid.	—	—	princip.	—	—	43	—
4 h. 53 m.	35 d.	—	—	princip.	—	3	44	—
5 h. 5 m.	25 d.	—	—	№ 2 côté droit derrière 23 cm.	oui	12	—	—
5 h. 21 m.	33 d.	—	—	princip.	—	5	45	—
5 h. 29 m.	coïncid.	—	—	princip.	—	—	46	—
				20/XI.				
4 h. 40 m.	coïncid.	—	—	princip.	—	—	47	—
4 h. 54 m.	30 d.	—	—	princip.	—	3	48	—
5 h. — m.	50 d.	—	—	princip.	—	2	49	—
5 h. 12 m	30 d.	60 d.	60%	№ 3 côté droit 15 cm.	non	6	—	—
5 h. 20 m.	0	—	—	princip.	—	—	50	—
5 h. 32 m.	57 d.	—	—	princip.	—	2	51	—
				21/XI.				
4 h. 35 m.	25 d.	—	—	princip.	—	5	52	—
4 h. 48 m.	52 d.	—	—	princip.	—	3	53	—
5 h. — m	16 d.	—	30%	№ 4 tarse droit 65 cm.	oui	3	—	La sécrétion de la salive s'arrête à la 20ième seconde.
5 h. 17 m.	58 d.	—	—	princip.	—	2	54	—
				25/XI.				
4 h. 35 m.	48 d.	—	—	princip.	—	5	70	—
4 h. 47 m.	12 d.	16 d.	25%	№ 5 épaule droite 37 cm.	non	8	—	—
4 h. 55 m.	28 d.	—	—	princip.	—	10	71	—
5 h. 11 m.	45 d.	—	—	princip.	—	3	72	—
				26/XI.				
4 h. 25 m.	26 d.	—	—	princip.	—	6	73	—
4 h. 37 m.	40 d.	—	—	princip.	—	5	74	—
4 h. 46 m.	36 d.	—	—	princip.	—	3	75	—

Tableau VIII (suite).

1	2	3	4	5	6	7	8	9
4 h. 58 m.	44 d.	--	100%	№ 6 côté droit 15 cm.	Oui	3	—	—
5 h. 17 m.	32 d.	—	—	princip.	—	6	76	—
				27/XI.				
3 h. 38 m.	36 d.	—	—	princip.	—	6	77	—
3 h. 58 m.	35 d.	—	—	princip.	—	12	78	—
4 h. 10 m.	32 d.	34 d.	91%	№ 7 côté droit 18 cm.	non	7	—	—
4 h. 19 m.	22 d.	—	—	p incip.	—	11	79	—
4 h. 33 m.	38 d.	—	—	princip.	—	3	80	—
				28/XI.				
4 h. 18 m.	32 d.	—	—	princip.	—	7	81	—
4 h. 34 m.	36 d.	—	—	princip.	—	9	82	—
4 h. 48 m.	38 d.	—	—	princip.	—	6	83	—
5 h. — m.	11 d.	—	30%	№ 8 avant-bras droit 48 cm.	oui	6	—	—
5 h. 8 m.	35 d.	—	—	princip.	—	5	84	—
				2/XII.				
4 h. 21 m.	31 d.	—	—	princip.	—	—	101	—
4 h. 33 m.	0	0	0%	№ 9 tête 60 cm.	non	—	—	—
4 h. 40 m.	24 d.	—	—	princip.	—	—	102	—
4 h. 55 m.	34 d.	—	—	princip.	—	—	103	—
5 h. 4 m.	36 d.	—	—	princip.	—	—	104	—
				3/XII.				
3 h. 58 m.	0	—	—	princip.	—	—	105	La salive ne coule pas bien, même lorsqu'on donne au chien de la nourriture.
4 h. 17 m.	26 d.	—	—	princip.	—	12	106	—
4 h. 26 m.	38 d.	—	—	princip.	—	7	107	—
4 h. 38 m.	4 d.	—	11%	№ 10 cou 43 cm.	oui	18	—	—
4 h. 45 m.	31 d.	—	—	princip.	—	6	108	—
				4/XII.				
4 h. 20 m.	33 d.	—	—	princip.	—	5	109	—
4 h. 38 m.	42 d.	—	—	princip.	—	3	110	—

Tableau VIII (suite).

1	2	3	4	5	6	7	8	9
4 h. 50 m.	23 d.	20 d.	55%	№ 11 dos, par devant 23 cm.	non	4	—	—
4 h. 59 m.	38 d.	—	—	princip.	—	4	111	—
5 h. 13 m.	36 d.	—	—	princip.	—	7	112	—
				5/XII.				
4 h. 5 m.	42 d.	—	—	princip.	—	6	113	—
4 h. 17 m.	29 d.	—	59%	№ 12 dos 11 cm.	oui	11	—	—
4 h. 32 m.	40 d.	—	—	princip.	—	7	114	—
				9/XII.				
4 h. 2 m.	33 d.	—	—	princip.	—	7	129	—
4 h. 20 m.	38 d.	—	—	princip.	—	4	130	—
4 h. 32 m.	42 d.	—	—	princip.	—	3	131	—
4 h. 48 m.	40 d.	—	—	princip.	—	3	132	—
5 h. — m.	12 d.	14 d.	30%	№ 13 omoplate droit 27 cm.	non	14	—	—
5 h. 10 m.	32 d.	—	—	princip.	—	6	133	—
5 h. 27 m.	36 d.	—	—	princip.	—	5	134	—
				10/XII.				
3 h. 55 m.	35 d.	—	—	princip.	—	5	135	—
4 h. 10 m.	38 d.	—	—	princip.	—	4	136	—
4 h. 18 m.	40 d.	—	—	princip.	—	2	137	—
4 h. 30 m.	8 d.	—	20%	№ 14 cuisse droite 36 cm.	—	12	—	—
4 h. 42 m.	40 d.	—	—	princip.	—	3	138	—
				11/XII.				
4 h. 8 m.	25 d.	—	—	princip.	—	7	139	—
4 h. 17 m.	52 d.	—	—	princip.	—	4	140	—
4 h. 29 m.	8 d.	7 d.	15%	№ 15 bassin à droite 35 cm.	non	3	—	La sécrétion de la salive s'arrête après 9 secondes et commence de nouveau à la 31ième seconde.
4 h. 45 m.	40 d.	—	—	princip.	—	7	141	—
				12/XII.				
4 h. 41 m.	20 d.	—	—	princip.	—	8	142	—
4 h. 50 m.	32 d.	—	—	princip.	—	4	143	—
5 h. 6 m.	36 d.	—	—	princip.	—	4	—	—

Tableau VIII (suite).

1	2	3	4	5	6	7	8	9
5 h. 18 m.	5 d.	—	13%	№ 16 cuisse gauche 47 cm.	oui	16	144	—
5 h. 48 m.	31 d.	—	—	princip.	—	4	145	—
				16/XII.				
4 h. 32 m.	35 d.	—	—	princip.	—	7	150	—
4 h. 39 m.	36 d.	—	—	princip.	—	3	151	—
4 h. 51 m.	32 d.	40 d.	90%	№ 17 côté droit 8 cm.	non	4	—	—
5 h. 16 m.	18 d.	—	—	princip.	—	8	152	—
5 h. 28 m.	38 d.	—	—	princip.	—	3	153	—
				17/XII.				
5 h. — m.	30 d.	—	—	princip.	—	10	154	—
5 h. 6 m.	32 d.	—	—	princip.	—	8	155	—
5 h. 18 m.	10 d.	—	31%	№ 18 côté gauche 20 cm.	oui	16	—	—
5 h. 30 m.	30 d.	—	—	princip.	—	10	156	—
				18/XII.				
3 h. 58 m.	35 d.	—	—	princip.	—	5	157	—
4 h. 10 m.	5 d.	15 d.	20%	№ 19 épaule gauche 45 cm. princip.	non	10	—	La sécrétion de la salive s'est arrêtée à la 16ième seconde et a commencé de nouveau à la 32ième seconde.
4 h. 30 m.	28 d.	—	—	princip.	—	6	158	—
4 h. 37 m.	39 d.	—	—	princip.	—	3	159	—
				19/XII.				
4 h. 27 m.	26 d.	—	—	princip.	—	6	160	—
4 h. 45 m.	50 d.	—	—	princip.	—	3	161	—
4 h. 57 m.	6 d.	—	12%	№ 20 cou, en haut 55 cm.	oui	20	—	—
5 h. 5 m.	48 d.	—	—	princip.	—	3	162	—
				20/XII.				
2 h. 3 m.	38 d.	—	—	princip.	—	5	163	—
2 h. 14 m.	43 d.	—	—	princip.	—	3	164	—
2 h. 19 m.	38 d.	—	—	princip.	—	4	165	—
2 h. 29 m.	40 d.	—	—	princip.	—	3	166	—

Tableau VIII (suite).

1	2	3	4	5	6	7	8	9
2 h. 34 m.	0	14 d.	0%	№ 21 jambe gauche 53 cm.	non	32	—	—
2 h. 50 m.	45 d.	—	—	princip.	—	3	167	—
				22/XII.				
3 h. 20 m.	45 d.	—	—	princip.	—	3	168	—
3 h. 25 m.	20 d.	—	44%	№ 22 côté gauche 17 cm.	oui	11	—	—
3 h. 44 m.	40 d.	—	—	princip.	—	4	169	—
3 h. 54 m.	42 d.	—	—	princip.	—	3	170	—

Les essais des nouvelles portions se faisaient habituellement 11 minutes après l'essai de la portion principale. Dans les expériences № 21 et № 22 nous l'avons fait 4 minutes après. Les résultats ont été les mêmes. On peut ainsi considérer que l'irradiation directe de l'excitation n'avait pas lieu même après 4 minutes et n'influençait pas la grandeur des réflexes à l'excitation des nouvelles portions, qu'elles soient situées loin ou près, si l'irradiation avait eu lieu, les chiffres auraient du être autres, suivant la phase du processus d'excitation irradiant que nous aurions rencontrée dans les centres de l'écorce du cerveau que nous avons excité. C'est pourquoi nous avons droit d'admettre qu'à l'essai des nouveaux endroits après 11 minutes nous avons observé le phénomène tel qu'il est, l'intervention de l'irradiation de l'excitation du centre correspondant à l'endroit principal étant écartée.

Dans le tableau ci-dessous les expériences sont exposées suivant les groupes.

Tableau IX. „Tchorny".

1ier groupe d'expériences.			2ième groupe d'expériences.			3ième groupe d'expériences.			4ième groupe d'expériences.			5ième groupe d'expériences.			6ième groupe d'expériences		
№ de l'expérience.	Dist. par rapport à la port. princip. en cm.	Grandeur du réflex en %%.	№ de l'expérience.	Dist. par rapport à la port. princip. en cm.	Grandeur du réflexe en %%.	№ de l'expérience.	Dist. par rapport à la port. princip. en cm.	Grandeur du réflexe en %%.	№ de l'expérience.	Dist. par rapport à la port. princip. en cm.	Grandeur du réflexe en %%.	№ de l'expérience	Dist. par rapport à la port. princip. en cm.	Grandeur du réflexe en %%.	№ de l'expérience	Dist. par rapport à la port. princip. en cm.	Grandeur du réflexe en %%.
3	15	60	6	15	100	12	11	59	13	27	30	17	8	90	22	17	44
2	23	71	7	18	91	11	23	55	15	35	15	18	20	31	21	53	6
1	42	52	5	37	25	10	43	11	14	36	20	19	45	20	—	—	—
4	65	30	8	48	30	9	60	0	16	47	13	20	55	12	—	—	—

Nous voyons ainsi que chez „Tchorny“ on a observé la première phase de la généralisation initiale bien que d'une manière pas si prononcée que chez „Ada“. En comparant les chiffres du premier et du deuxième groupe d'expériences, nous constatous que les chiffres les plus élevés ont été déjà obtenus au cours de la deuxième série d'expériences. Ainsi, par exemple, dans le premier groupe l'endroit № 3 à une distance de 15 cm. donne 60%, dans le deuxième groupe l'endroit № 6 situé à la même distance donne déja 100% ; dans le premier groupe l'endroit № 2 à une distance de 23 cm. donne 71%, dans le deuxième l'endroit № 7 qui se trouve un peu plus près, à une distance de 18 cm. donne 91%. Nous répétons que cela ne s'est pas manifesté d'une manière accentuée, mais même ces petites indications sont importantes pour nous, car nous avons des raisons à supposer que nous avons commencé les essais trés tard, lorsque la première phase du réflexe généralisé passait déjà à la deuxième. Ensuite a commencé, ainsi que chez les premiers animaux, la spécialisation du réflexe.

Passons à la discussion des résultats obtenus. Nous voyons qu'au début, à mesure que le lien entre une portion déterminée de la peau et la reaction de réponse (sécrétion de la salive) devient plus solide, il s'établit un lien entre cette réaction et les portions voisines de la peau. La sphère de l'action du réflexe conditionnel s'élargit peu à peu, atteint le maximum et puis commence à se rétrécir de nouveau. Quant au stade initial, au processus primaire de la généralisation du réflexe, il doit être considérè comme l'effet de l'irradiation. Si toute excitation — quel que soit son caractère, — ayant pris naissance dans un point déterminé de l'écorce du cerveau, a la tendance à se répandre aux points voisins, il est évident que le lien qui s'établit pour un point, pour une cellule, doit s'établir aussi pour les cellules voisines. Il n'y aura que cette différence que la force du lien diminuera à mesure que le points seront plus éloigné du point de départ. Tel est le mécanisme trés simple de la généralisation primaire.

Il est plus difficile d'expliquer la spécialisation du réflexé qui a lieu ensuite. Extérieurement nous avons ici le même tableau que l'on observe à la formation de la différenciation; peu à peu certaines portions de la peau se libérent du lien avec la glande salivaire, et le réflexe se trouve lié avec un endroit déterminé de la peau. Il se pose la question de savoir si les processus internes qui ont lieu à la formation de la différenciation et à la spécialisation du réflexe conditionnel que nous avons observée sont identiques.

La différenciation se réalise, comme on le sait, à l'aide d'un processus d'inhibition, ce qui lui communique des particularités caractéristiques. Lorsque arrive dans les grandes hémisphères l'excitation qui doit

être différenciée et laissée sans réaction de réponse conditionnelle, dans la cellule qui perçoit cette excitation se développe un processus d'inhibition, un processus d'arrêt. De là le processus d'inhibition, suivant la loi générale de l'irradiation, se répand dans l'écorce du cerveau, embrassant aussi les cellules perceptives, qui présentent les chaînons centraux du réflexe conditionnel formé. Si nous appliquons maintenant sans retard l'excitant fondamental actif, l'impulsion nerveuse qu'il provoque rencontrera dans les cellules de l'écorce les traces du processus d'inhibition et sera tout à fait supprimé ou atténué. On obtient alors ce qui est connu sous le nom de l'inhibition successive, qui consiste dans la suppression plus ou moins brusque du réflexe conditionnel actif que l'on essaie immédiatement après l'excitation d'un point qui est inactif grâce à la différenciation. C'est justement cette inhibition successive liée au processus de la différenciation qui a fait défaut dans nos expériences.

En discutant le probléme de lacunes de notre technique, nous avons cité un tableau se rattachant à nos expériences sur „Rok". Il résulte de ce tableau que dans les cas où l'on obtenait un zéro à l'excitation des nouveaux endroits c. à. d. dans les cas où ceux-ci se distinguaient complétement de l'endroit fondamental et lorsque l'excitation n'était pas accompagnée d'un réflexe inconditionnel, le réflexe suivant n'était même pas diminué. Pourtant il y avait dans ces cas une analogie complète avec les expériences concernant la différenciation. Les centres de nouveaux endroits ne développent pas évidemment de processus d'inhibition même au cas où l'on obtient un zéro à leur excitation c. à. d. lorsque la distinction vis à vis de l'endroit fondamental est compléte.

Il faut signaler tout de même que l'inhibition successive dans sa forme précise a fait défaut seulement chez „Rok" et chez „Tchorny", tandis que chez „Ada" au cas où l'exitation de nouveaux endroits donnait un zéro, le réflexe suivant, à l'excitation de l'endroit principal, était diminué. Peut être cette constatation se trouve en connexion avec le fait que l'on constatait souvent chez „Ada": à un zéro durant les premières trente secondes, la salive s'écoulait tout de même durant les deuxièmes trente secondes. Il n'y avait pas ainsi de délimitation complète de nouveaux endroits par rapport à l'endroit principal, et nous pouvons considérer ces cas comme le résultat l'extinction du réflexe suivant. On a observé une extinction semblable chez tous les chiens d'une manière bien distincte dans les cas où il y avait de la salive à l'excitation de nouveaux endroits sans qu'on fasse emploi d'un excitant inconditionnel. Seulement au cours de dernières expériences il n'y avait pas chez „Rok" de diminution du réflexe à la suite de l'extinction.

Dans le tableau ci-dessous nous ne citons que les observations où au cas de l'absence de la salive on n'a pas ensuite fait emploi de l'ex-

citant inconditionnel, parce que ces expériences prèsentent une analogie complète avec les expériences sur la formation de la différenciation.

Tableau X.

„Ada“. „Tchorny“.

Il n'a pas été obtenu de salive à l'excitation des nouvelles portions; il n'a pas été fait emploi d'une excitation inconditionnelle.								
	Nombre de gouttes de salives.					Nombre de divisions du tube.		
№ de l'expérience.	Refl. précéd. (à l'exc. de la portion princip.).	Essai de la nouvelle portion.		Refl. suiv. (à l'excit. de la port. princip.).	№ de l'expérience.	Refl. précéd. (à l'exc. de la portion princip.).	Essai de la nouvelle portion.	Réfl. suiv. (à l'excit. de la port. princip.).
		30 sec.	30 sec.					
1	7	0	0	3	9	31	0	24
5	5	0	5	1	21	40	0	45
9	6	0	0	3	—	—	—	—
11	7	0	4	4	—	—	—	—
15	9	0	0	6	—	—	—	—
17	9	0	4	5	—	—	—	—
21	9	0	3	7	—	—	—	—

Le deuxième motif, qui plaide contre la supposition que dans nos expériences la limitation du lien de la peau avec la glande salivaire dépendait du processus de la différenciation, est le suivant. Tous les observateurs signalent qu'il est seulement difficile de former la première différenciation et que les différenciations suivantes se forment facilement et rapidement. Le processus d'inhibition qui se développe à la différenciation irradie évidemment d'une manière si énergique dans l'écorce du cerveau qu'il laisse des traces dans tout l'appareil analysateur du cerveau. Et ensuite lorsque d'autres endroits se différencient, tous ces endroits qui ont servi si souvent d'arène au processus d'inhibition développent très facilement eux même l'inhibition. Si l'on répresente la marche de la formation des différenciations par une courbe, c'est une courbe qui, une fois la première différenciation établi, descend brusquement. Un tout autre tableau se présente dans nos observations. Il est difficile de réprésenter les données se rapportant ici sous forme d'une courbe mathémathique, la grandeur avec laquelle nous devons opérer, la distance du nouvel endroit de l'endroit habituel, n'étant pas constant dans notre cas. Néanmoins nous voulons donner deux séries de chiffres; dans une nous voulons montrer, comme la région de la peau au délà des limites de laquelle il n'y avait pas de sécrétion de salive (zéro) se rétrécissait lentement et graduellement, dans l'autre, comme la quantité de la salive obtenue à l'essai des endroits situés approximativement à la même distance proche diminuait peu à peu et d'une manière uniforme.

Chez „Rok“ il y avait des zéros à la distance:

47 cm. (1er gr.); 40 cm. (3ième gr.); 16 cm. (5ième gr.).

Chez „Ada“:

52 cm. (2ième gr.); 30 cm. (6ième gr.).

Chez „Tchorny“ nous n'avons obtenu que très rarement des zéros, c'est pourquoi nous passons à l'examen des données concernant la deuxième série de chiffres et nous voulons montrer, comment le réflexe diminuait graduellement avec le temps à l'excitation des endroits situés à la même distance.

$\frac{48\text{ cm.}}{30\ \%}$ (2ième gr.); $\frac{43\text{ cm.}}{11\ \%}$ (3ième gr.); $\frac{47\text{ cm.}}{13\ \%}$ (4ième gr.); $\frac{45\text{ cm.}}{20\ \%}$ (5ième gr.);

$\frac{53\text{ cm.}}{0\%}$ (6ième gr.).

Le tableau analogue concernant les endroits proches donne les chiffres suivants:

„Rok“. $\frac{25\text{ cm.}}{100\ \%}$ (1er gr.); $\frac{10\text{ cm.}}{85\%}$ (3ième gr.); $\frac{16\text{ cm.}}{29\ \%}$ (4ième gr.);

$\frac{16\text{ cm.}}{0\ \%}$ (5ième gr.).

„Ada“. 1) $\frac{33\text{ cm.}}{100\ \%}$ (2ième gr.); $\frac{30\text{ cm.}}{33\ \%}$ (3ième gr.); $\frac{30\text{ cm.}}{0\%}$ (6ième gr.).

2) $\frac{18\text{ cm.}}{100\ \%}$ (2ième gr.); $\frac{16\text{ cm.}}{85\ \%}$ (4ième gr.); $\frac{16\text{ cm.}}{50\ \%}$ (6ième gr.).

„Tchorny“. $\frac{18\text{ cm.}}{91\ \%}$ (2ième gr.); $\frac{23\text{ cm.}}{55\ \%}$ (3ième gr.); $\frac{20\text{ cm.}}{31\ \%}$ (5ième gr.).

Les chiffres cités montrent que la spécialisation du réflexe se faisait dans notre cas très lentement et graduellement, la marche de ce processus se distinguant d'une manière considèrable de la formation de la différenciation. Il faut faire remarquer, en outre, que les conditions mêmes de nos expériences excluaient la possiblité de différencier les endroits éloignés des endroits situés plus près. S'il pouvait se former une différenciation, celle-ci ne concernait que toute la région active de la peau par rapport à la portion principale. Si l'on admet que l'on se trouve en présence d'une distinction basée sur une différen-

ciation vis à vis des endroits éloignés, ou devait constater la même distinction vis à vis des endroits proches, ce qui n'était pas le cas.

Il n'est pas inutile d'indiquer ici encore une particularité des faits que nous avons observés et qui plaident aussi contre la différenciation. Krasnogorsky[1]) signale qu'a une phase déterminée de la différenciation le détail suivant se fait remarquer. „Si, à l'excitation d'un endroit inactif, il se manifeste encore un faible réflexe de 2 à 3 gouttes, ces gouttes s'écoulent immédiatement, au début de l'excitation, durant les premières 5 à 10 secondes. Puis la sécrétion s'arrête, et les 20 secondes suivantes la salive reste dans l'entonnoir sans mouvement. Il arrive comme si l'acte inhibitoire n'était pas suffisant durant les premiers moments pour arrêter la réaction positive, ce n'est qu'avec le temps qu'il s'accroit, se condense et devient enfin suffisant pour supprimer l'effet actif.“ Nous aussi, nous avons observé un fait pareil chez „Tchorny“, mais seulement dans trois cas, et dans deux de ces cas la sécrétion de la salive, qui s'est arrêtée, se renouvelait au début de la deuxième moitié de la minute. Suivant nos observations, habituellement c'est un phénomène inverse qui se manifeste, le réflexe retarde d'une manière bien prononcée, la salive ne se montrant qu'aprés la première moitié de la minute.

Nous pouvons ainsi admettre avec une probabilité plus ou moins grande que dans nos expériences la limitation graduelle de la région active de la peau dépendait non pas de la différenciation se formant lentement, mais d'autres causes. En se basant sur les connaissances actuelles concernant la physiologie du systéme central nerveux, on peut supposer deux possibilités. Il est possible que nous ayons affaire au développement d'un processus d'inhibition, non pas local caractéristique de la différenciation, mais d'un processus diffus, généralisé. L'onde inhibitoire qui se dirigeait dans le sens contraire pouvait peu à peu embrasser des points éloignés, ne permettant pas ainsi au processus d'excitation de se répandre dans l'écorce des hémisphères et mettre au jour le lien généralisé avec la glande salivaire. Nous avons eu en vue d'abord ce point de vue.

Pour élucider cette question nous avons fait quelques expériences sur le chien „Rok“. Il existe dans la bibliographie des indications, suivant lesquelles l'excitation simultanée de deux endroits différenciés de la peau, qui ne donnent pas, excités isolement, de salive peut provoquer un réflexe complet. Krasnogorsky qui a constaté, le premier, ce fait, l'explique comme une suppression de l'inhibition („désenraiement“), comme une neutralisation mutuelle de deux processus d'inhibition, qui a eu pour suite le rétablissement complet du réflexe.

---

1) l. c., p. 33,

Nous essayons alors simultanément deux des endroits les plus éloignés, de la peau, supposant que si, excités isolément, ils n'ont pas donné de salive, ils provoqueront la sécrétion de la salive, excités ensemble. Mais le résultat était tout autre.

19/III.

4 h. 37 m.	port. princip.	9 gouttes		
4 h. 49 m.	1) la tête + 2) le cou	0 g.	4 g.	sans emploi d'excitation inconditionnelle.
4 h. 52 m.	port. princip.	9 g.	— g.	

On voit ainsi que ce n'est que durant la deuxième moitié de la minute qu'il y avait 4 gouttes de salive. Supposant que ces 4 gouttes sont dues au phénomène de la suppression de l'inhibition („désenraiement") qui s'est manifestée faiblement à cause de la distance des endroits excités, nous prenons deux endroits qui sont situés plus prés.

22/III.

3 h. 10 m.	port. princip.	9 g.	— g.	
3 h. 22 m.	1) dos 2) bassin	1 g.	4 g.	sans excitation inconditionnelle.
3 h. 26 m.	port. princip.	11 g.	— g.	

L'effet était presque le même que dans l'expérience précédente.

Nous prenons alors deux endroits situés très près et nous obtenons un réflexe énorme.

24/III.

3 h. 27 m.	port. princip.	8 g.	
3 h. 35 m.	port. princip.	10 g.	
3 h. 47 m.	1) cuisse gauche 2) côté gauche	13 g.	avec l'exitation inconditionnelle.

En examinant les procés-verbaux de nos expériences, nous trouvons que deux endroits, excités ensemble, ont agi de la même manière que chacun de ces endroits, excité isolément. Il y avait cette différence que les chiffres ont été plus élèvés. On avait l'impression que ces deux endroits agissent synénergiquement, se renforçant mutuellement et non en supprimant l'inhibition et que les chiffres plus élevés sont dûs à la sommation des excitations. Pour élucider cette question nous faisons agir simultanément trois appareils à piquer sur trois endroits situés à une distance moyenne.

26/III.

2 h. — m.	port. princip.	8 g.	
2 h. 15 m.	1) dos 2) côté gauche 3) côté gauche	11 g.	Se lève. Il n'y a pas de réaction négative.

Le réflexe obtenu a été assez fort. La glande salivaire, qui a été liée d'une manière faible avec chacun de ces trois endroits pris isolé, a agi, comme si elle avait travaillé avec la triple force lorsque le trois endroits ont agi sur elle simultanément.

L'essai de trois endroits éloignés a donné le résultat suivant.

28/III.

3 h. 32 m.	port. princip.	11 g.	
3 h. 44 m.	1) cou 2) dos 3) côté gauche	6 g.	Avec l'excitation inconditionnelle. Est assis.

Nous essayons enfin simultanément cinq endroits, entraînant ainsi dans le processus de l'excitation une région trés considérable de l'analysateur cutané. Le réflexe obtenu a été plus fort.

29/III.

3 h. 50 m.	port. princip.	9 g.	
4 h. 2 m.	1) cuisse droite 2) ventre 3) cuisse droite 4) dos 5) côté gauche	12 g.	Est assis.

Il faut faire remarquer que l'on faisait ces expériences au moment où le réflexe était déjà trés spécialisé chez „Rok" et où tous les endroits essayés, excepté les endroits situés très prés qui n'ont pas été essayés dans ces experiences, donnaient ou bien des zéros ou bien des chiffres très bas.

Après ces expériences, nous avons commencé à nous pencher (certes, non pas à affirmer) à la supposition que la spécialisation du réflexe généralisé dépend de ce que, avec le temps, l'irradiation de l'excitation du centre de l'endroit fondamental devient toujours plus et plus limitée. En d'autres mots, la région, embrassée par l'excitation qui arrive dans l'écorce des hémisphéres, devient toujours plus petite. Les portions de l'écorce cérébrale, qui auparavant étaient entraînées dans le processus de

l'excitation, restent à présent libres. Les centres des nouveaux endroits ne dépendent plus du centre de l'endroit fondamental, c'est pourquoi il n'y a plus de lien entre ces endroits et la glande salivaire, ce lien n'existant que grâce à l'irradiation de l'excitation.

Conclusion.

Nous pouvons résumer comme suit les résultats de nos recherches.

Lorsqu'on forme un réflexe conditionnel à une excitation déterminée, on obtient un réflexe qui répond à toute une série d'excitations du même ordre, en d'autres mots len obtient un réflexe généralisé.

La réflexe conditionnel cutané généralisé passe deux phases de développement. Au cours de la première phase a lieu une généralisation plus ou moins vaste du réflexe, un élargissement graduel de la région active de la peau. A la fin de cette phase nous avons un réflexe généralisé stable. Puis, à mesure que l'on continue à répéter le réflexe fondamental, se dessine la seconde phase, la phase de la spécialisation graduelle du réflexe, c. a. d. la limitation de la région active de la peau.

Le système central nerveux de l'animal ne fait pas ainsi l'analyse fine d'emblée, mais réagit d'abord d'une manière grossière.

En ce qui concerne le mécanisme des réflexes généralisés, on peut se le répresenter de la manière suivante.

La généralisation du réflexe se fait grâce à l'irradiation de l'excitation du centre du réflexe que l'on forme sur les portions voisines de l'écorce céréblale et grâce à ce que ces portions sont d'abord entraînées dans le processus de l'excitation, ce qui a pour suite l'établissement d'un lien solide avec la même réaction de réponse qui est liée à l'excitation de la portion principale. Il s'établit ainsi un lien entre la réaction de la sécrétion de la salive et une certaine région de la peau autour de l'endroit habituellement excité. Ce lien est d'autant plus intense que les endroits en question se trouvent plus près de l'endroit principal, il devient plus faible à mesure que la distance entre la portion essayée et la portion fondamentale augmente. On peut voir, selon notre opinion, la cause de la spécialisation du réflexe dans ce que, avec le temps, l'irradiation de l'excitation du centre de la portion fondamentale devient moins diffuse et les centres voisins n'étant plus entraînés dans le processus de l'excitation perdent leur lien avec la glande salivaire.

L'examen plus profond des particularités caractéristiques des réflexes généralisés amène, croyons nous, à la conclusion qu'ils présentent des réactions plus simples en comparaison avec les réflexes adaptés à un excitant déterminé par des procédés spéciaux, par lesquels on forme la différenciation. En effet il y a une différence essentielle entre la spécifité du réflexe conditionnel au cas où il est différencié et le réflexe spécia-

lisé seulement grâce à la répétition reitérée. Dans le premièr cas les endroits inactifs sont distingués grâce à un processus actif d'inhibition, tandis que dans le second cas il n'y a pas, à ce qu'il paraît, de processus pareil et certaines parties de la peau cessent d'agir simplement parce qu'il n'y a pas de lien entre elles et la reaction de reponse (sécrétion de la salive). Dans le premier cas l'excitation qui arrive dans l'écorce des hémisphères est arrêtée et ne peut pas atteindre l'organe de travail, tandis que dans le second cas l'excitation ne manifeste pas de tendance d'agir sur l'organe de travail sans qu'il y ait un arrêt. Si nous admettons que, à mesure que le réflexe généralisé se spécialise, l'onde de l'irradiation de l'excitation devient toujours moins vaste, nous pouvons supposer un cas où le processus nerveux après avoir atteint les celluses de l'écorce des grandes hémisphères, ira de là directement par les fibres efferentes, sans exercer une influence sur les cellules voisines. Peut être c'est en ceci que consiste le mécanisme des réactions que la psychologie désigne par le terme des réactions, automatiques.

Il y avait a dans ce qui précède des spèculations qui ne découlent pas directement de nos expériences, mais présentent des conclusions logiques des détails de nos expériences. Considérant quil faut distinguer rigoureusement les faits de leur explication, nous devons insister que nous admettons comme prouvé seulement le fait du réflexe généralisé qui se spécialise ensuite. Tous les autres détails doivent encore être vérifiés et confirmés, c'est pourquoi beaucoup de nos raisonnements ne peuvent prétendre qu'à une certaine probabilité.

En terminat ce travail il, m'est un devoir agréable d'apporter l'expression de ma profonde gratitude à mon cher maître I. Pavlov pour es moments heureux que j'ai passés dans son laboratoire.

Je suis aussi trés reconnaissant à tous mes collégues du laboratoire.



Sur les protamines de la laitance de l'esturgeon russe.

Par **P. Glagolev.**

(Laboratoire de Chimie physiologique de l'Institut de Médecine de Femmes. Directeur Prof. B. Slovtzov[1].)

Au cours de l'année passée notre laboratoire a reçu une collection de protamines de l'esturgeon russe, qui présente le résultat d'un travail d'au moins de deux ans (1906—1908) sous la direction du regretté D. Kouraïev, autrefois Professeur à l'université de Kharkov. La description de modes dont les protamines ont été obtenues et la courte préface qui explique, jusqu'a un certain degré, le but du travail ont mis au jour la grande valeur de cette collection de préparations.

Nous avons eu l'honneur de mener à bout ce travail qui malgré l'interruption de 6 ans n'a pas perdu son intérêt scientifique.

Il s'agit de la protamine, comme individualité chimique. Cette question apparamment simple était pourtant difficile à résoudre. Il était nécessaire de constater: 1) si la laitance mûre contient en effet une protamine de composition déterminée 2) si la composition élementaire la protamine varie suivant les modes de sa préparation.

---

1) Ce travail présente la suite ou, si l'on peut le dire, l'accord final de l'activité du regretté Prof. Kouraïev, avec lequel j'étais lié par des liens des travaux communs. Peu avant sa mort prématurée, il a eu l'idée de commencer un travail concernant l'étude de la formation des protamines dans la laitance des poissons et il a chargé son élève le Dr. Poltavtzev d'isoler une série de protamines de la laitance de l'esturgeon des périodes différentes au point de vue du frai. On a essayé en même temps différents modes de préparation. Après la mort de Kouraïev et de Poltavtzev une partie considérable de la précieuse collection de protamines de périodes diverses de formation et de différents modes de préparation est passée dans mes mains, et j'ai considéré comme devoir à la mémoire de deux chercheurs de mener à bout ce travail. Le travail analytique minitieux a été accompli par mon assistant P. Glagolev, auquel tout ce travail appartient.

B. Slovtzov.

En conformité de ce but la collection contient des protamines de différentes périodes (mai — juillet) au point de vue du frai [1]).

Pour obtenir ces protamines, on employait ou bien la technique telle qu'elle a été élaborée par différents auteurs précédents, ou bien on introduisait certaines modifications au point de vue de la méthode; dans certaines cas on étudiait un stade déterminé de la préparation.

Grâce à ces différents modes que l'on a suivis dans la préparation, les résultats des analyses de ces préparations présentent un tableau instructif qui nous dévoile les particularités de la formule élementaire du corps protamique donné.

Les protamines, comme on le sait, ont été découvertes par Miescher dans la laitance du saumon [2]) et ont été ensuite étudies par I. Piccard [3]), Cloett [4]) et Schmiedeberg [5]) et particulierement d'une manière complète et détaillée par Kossel et ses collaborateurs.

Kossel a élaboré une technique pour la préparation des protamines, ce qui lui a permis d'établir la formule élementaire des différentes protamines: de la salmine (la protamine de la laite du saumon), de la clupéine (la protamine du hareng), de la sturine (la protamine de l'esturgeon allemand, *Acipenser sturio)* etc. On a isolé ensuité la protamine de *Cyclopus lumpus* (cycloptérine [7]), du maquerau (scombrine [8]); plus tard A. Kossel et Dakin ont trouvé chez la carpe des protamines, qu'ils ont appelées α et β cyprinine [9]) etc.

Dans les premières recherches il était d'intérêt de comparer les formules élementaires des protamines d'origine differénte; on a constaté, en effet, que les protamines d'origine différente présentent des différences.

Puis les premières recherches de Kossel ont etabli l'identité des protamines des poissons appartenant au même sous-ordre: ainsi, la for-

---

1) Il s'agit de l'esturgeon de la Mer Caspienne qui fraie dans le fleuve de Soulak durant les mois de mai, juin et juillet.

2) *Verhandl. d. naturforsch. Gesellsch. zu Basel,* t. 6, 138, 1874.

3) *Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm.*, t. 37.

4) Über Protamin, Guanin und Sarkin, als Bestandteile des Lachsspermas *Ber. d. Deutsch. chem. Gesellsch.*, t. 7, 1714, 1874.

5) *Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm.,* t. 37, 1896.

6) A. Kossel, Über die basischen Stoffe des Zellkerns. *Ztschr. f. physiol. Chemie,* t. 22, 176, 1896; Über Constitution der einfachsten Eiweisskörper. *Ibid.,* t. 25, 115, 1896.

7) A. Morkowin, Ein Beitrag zur Kenntnis der Protamine *Ztschr. f. physiol. Chemie,* t. 28, 313, 1899.

8) D. Kurajeff, *Ztschr. f. physiol. Chemie,* t. 26, 524, 1899.

9) A. Kossel u. H. Dakin, Beitrag zur System. der einfachsten Eiweisskörper *Ztschr. f. physiol. Chemie,* t. 40, 567, 1904.

mule de la protamine du saumon (salmine): $C_{30}H_{59}N_{17}O_7$ et la clupéine: $C_{30}H_{57}N_{17}O_6$ ne se distinguent que par une molécule d'eau constitutive. Plus tard pourtant Kossel a dû, en se basant sur les déterminations des bases hexoniques et des acides aminés[1]) dont la salmine est composée, modifier la formule de cette protamine et lui attribuer la formule $C_{81}H_{155}N_{45}O_{18}$ ou $C_{98}H_{186}N_{54}O_{24}$. Les recherches ultérieures ont montré qu'il y a une ressemblance frappante entre la salmine et la clupéine au point de vue de la quantité des acides aminés et diaminés qui les composent, mais on n'a pu constater d'identité[2]); certaines données de ces recherches suggèrent, en outre, chez l'auteur l'idée qui pose le probléme de savoir si ces corps protéiques simples ne présentent pas de mélange des corps encore plus simples[3]),

A la protamine du représentant du groupe de l'esturgeon (*Acipenser sturio*), à la sturine Kossel atribue la formule: $(C_{36}H_{69}N_{19}O_7)_n$.

En se servant de la technique élaborée par Kossel, Kouraïev a isolé de la laite de l'esturgeon russe (*Acipenser stellatus*) une protamine dont la formule élementaire différait un peu de la formule de la sturine. La protamine obtenue à la formule $(C_{35}H_{72}N_{18}O_9)_n$ a été appelée par Kouraïev acipenserine.

La technique de la préparation des protamines citées consistait habituellement dans la préparation des sulfates (combinaisons complexes avec H_2SO_4).

Les anciens auteurs: Miescher (1874), Piccard (1874), Cloetta (1896), Schmiedeberg (1896) ont analysé les protamines sous forme de leurs chloroplatinates. Ces combinaisons ont été étudiées de la manière la plus détaillée au laboratoire de Kossel par Goto[4]) qui a établi, au cours de ce travail, les formules élementaires de la salmine, de la clupéine et de la sturine.

Si nous comparons ces formules à celles des protamines étudiées sous forme de sulfates, nous ne trouvons d'identite qu'en ce qui concerne la salmine.

	Salmine.	Clupéine.	Sturine.
Sulfates	$C_{30}H_{57}N_{17}O_6+H_2O$	$C_{30}H_{57}N_{17}O_6$	$C_{36}H_{69}N_{19}O_7$
Chloroplatinates .	$C_{30}H_{57}N_{17}O_6$	$C_{30}H_{62}N_{14}O_9$	$C_{34}H_{71}N_{17}O_9$

1) A. Kossel u. Dakin, Über Salmin und Clupein *Ztschr. f. physiol. Chemie*, t. 41, 408, 1904.

2) V. A. Kossel, Über die einfachsten Eiweisskörper. *Bioch. Zntrbl.* t. V, № 1 et № 2, 33, 1906/7.

3) *l. c.* № 2, 33.

4) Goto, Über die Protamine. *Ztschr. f. physiol. Chemie*, t. 37, 94, 1902/3.

Il est intéressant d'ajouter que la scombrine, obtenue par Kouraïev[1]) sous forme de sulfates, n'a pas présenté d'identité avec la scombrine sous forme de chloroplatinate.

Scombrine.

Sulfate	$C_{30}H_{60}N_{16}O_6$
Chloroplatinate . . .	$C_{32}H_{72}N_{18}O_8$

Cette différence des résultats obtenus dans des conditions différentes fait déjà ressortir l'importance de la méthode ou de la technique dans le probléme de l'isolement des protamines à l'état pur.

Il faut dire que les protamines, ces „corps protéiques les plus simples" (Kossel) dont la molécule dans sa masse principale se compose de bases hexoniques (arginine, lysine, histidine) n'est caractéristique que de la laite mûre et que dans la laite non mûre Bang[2]) a établi la présence des corps protéiques voisines, au point de vue de leurs propriétés, de protamines, des histones qui, d'après la quantité d'acides aminés qui les composent, présentent une forme de passage au corps protéiques dans le sens propre de ce mot.

En partie, des recherches chimiques, en partie, des observations biologiques (de Miescher sur le saumon du Rhin) conduisaient à la conception que les protamines se forment dans la laitance aux dépens des corps protéiques du tissu musculaire par voie de séparation des combinaisons contenant des acides aminés. Kossel a voulu même reconnaître dans les protamines le „noyau fondamental de la molécule protéique".

Selon cette conception, le processus de la maturation de la laite est accompagné du dédoublement des corps protéiqués complexes avec la formation des protamines. La présence, par exemple, d'une grande quantité d'acides aminés dans une préparation (salmine) étudiée par Abderhalden[3]) est justement expliquée par le fait que la laitance analysée n'était pas mûre.

Si l'on ajoute que, ainsi que l'a montré encore Miescher[4]), les protamines dans la laite sont combinées avec les acides nucléiques, il devient clair que l'isolément et l'obtention des protamines à l'état pur doit présenter des difficultés.

On peut considérer comme exemple frappant de l'importance pour le problème de l'individualisation des protamines des méthodes (de la

---

1) *l. c.*

2) I. Bang. *Ztschr. f. physiol. Chemie*, t. 27, 463, 1899.

3) E. Abderhalden, Die Aminosäuren des Salmins, *Ztschr. f. physiol. Chemie.* t. 41, 55, 1904.

4) *l. c.*

technique) de leur isolément la constatation de Malenuk[1]) qui, ayant dans une certaine mesure modifié la technique de Kossel[2]), a montré que les protamines obtenues d'après la technique de Kossel contiennent une certaine quantité d'adénine.

Vu tout cela, on comprend pourquoi Kouraïev ne s'est pas arrêté définitivement à la formule de la protamine de l'esturgeon russe *(Acipenser stellatus)* obtenue par lui et qui diffère de la formule de réprésentant du même genre d'acipenserides, de l'esturgeon allemand *(Acipenser sturio)* et a entrepris les recherches présentes.

Avant de passer à l'examen des analyses des protamines il est nécessaire de résumer brièvement les points principaux de la technique de la préparation de cette substance élaborée par l'école de A. Kossel.

Pour obtenir le sulfate de la protamine d'après Kossel les opérations suivantes sont nécessaires:

1) Extraction de la laitance par de l'eau.

2) Précipitation par de l'acide acétique (séparation des têtes des spermatozoïdes de leurs queues).

3) Traitement du précipité par de l'alcool et de l'éther (dégraissement etc.).

4) Transformation en sulfate en agitant pendant un temps assez long avec H_2SO_4 à 1%.

5) Précipitation du sulfate par le triple volume d'alcool (répéter).

6) Obtention de „l'huile de la protamine“ basée sur la propriété du sulfate de la protamine de se dégager à la suite de la concentration sous forme d'une huile.

7) Transformation du sulfate (huile) en picrate par la précipitation par le picrate de sodium. La transformation en picrate a, suivant Kossel, le but d'éliminer les traces des acides nucléiques.

8) Transformation du picrate en sulfate avec l'extraction consécutive de l'acide picrique par de l'éther.

Suivant Kossel, le sulfate de la protamine est précipité dans ce cas sous forme d'un dépôt blanc poreux; si le dépôt est visqueux on répéte la précipitation par de l'alcool.

Malénuk[3]) a introduit certaines modifications dans cette technique.

L'auteur touche d'abord le problème des parties composantes minérales des protamines, en soumettant sous ce rapport à la critique des

---

1) W. D. Malenuk, Zur Chemie der Protamine, *Ztschr. f. physiol. Chemie* t. 57, 1908/9.

2) V. plus haut.

3) *l. c.*

points isolés de la technique de Kossel. L'auteur constate ainsi que la précipitation répétée du sulfate de la protamine par l'alcool joue un rôle important dans la déminéralisation de la préparation, mais n'a pas de signification absolue (après là précipitation (répétée sept fois) du sulfate de la protamine d'*Acipenser stellatus* la substance contenait encore 1,32 p. 100 de cendres). Selon l'auteur, il n'est pas non plus certain que le caractère poreux du précipité du sulfate de la protamine témoigne de la pureté de la préparation.

Le protamines de l'esturgeon russe qu'il a étudiées perdaient à la réprécipitation la propriété d'être précipitées sous forme de flocons, mais étaient précipitées sous forme d'une masse visqueuse; suivant ses observations, NaCl et les sels de Ca favorisent particulièrement la précipitation de la protamine (sous forme de flocons).

L'auteur indique encore qu'il est difficile d'obtenir, suivant la technique de Kossel, le picrate exempt d'acide picrique (extraction de l'acide par de l'éther): en effet, le picrate visqueux qui se colle aux parois de l'entonnoir ne crée pas de conditions favorables à cette opération; en outre, le picrate de la protamine contient dans ce cas, entre autre, du picrate de l'adénine. L'auteur propose d'éloigner cette substance par la dissolution réitérée dans l'acétone, le picrate de l'adénine étant difficilement soluble dans ce dissolvant.

Il est important de faire remarquer qu'a à la dissolution réitérée dans l'acétone on obtenait parfois de grands précipités non solubles, et que la présence du picrate de l'adénine ne dépend pas du fait si les extraits contenant les sulfates des protamines sont transformés immédiatement en picrates ou s'ils subissent la précipitation préalable par de l'alcool.

On voit ainsi que les préparations obtenues d'après Kossel ne sont pas en tout cas exemptes d'adénine.

Les modifications de Malenuk sont les suivantes:

1) Obtention de la poudre du sperme d'après Miescher.

2) Extraction par H_2SO_4 à 2%.

3) Précipitation de la solution du sulfate par le picrate de sodium. (Les premiers précipités ont été meilleurs et consistaient dans $^3/_4$ du picrate de la protamine.)

4) Dissolution du picrate dans de l'acétone à la température de 56° à 58° C.

5) Précipitation de la protamine de la solution dans l'acétone sous forme de sulfate par l'addition de H_2SO_4.

Il est intéressant de signaler qu'à la première précipitation le sulfate se déposait sous forme de flocons qui se collaient vite ensemble, à la deuxième précipitation sous forme d'une masse ductile et visqueuse; il faut ajouter que les précipités, après de nombreuses précipitations, ne contenaient qu'une pétite quantité de cendres (0,12 à 0,1 p. 100).

6) Obtention de „l'huile".
7) Transformation du sulfate en picrate.
8) Traitement par l'acétone.
9) Transformation en sulfate, précipité par l'alcool.

Le technique de l'isolement des protamines sous forme de chloroplatinates d'après Goto est la suivante:

1) Obtention du sulfate primitif.
3) Obtention de la protamine libre (H_2SO_4 est précipité par $BaCl_2$).
3) Dissolution de la solution concentrée de la protamine dans l'alcool méthylique absolu qui est additionnée de quelques gouttes de HCl.
4) Précipitation réitérée du chlorhydrate par l'éther absolu (3 fois).
5) Précipitation sous forme de chloroplatinate par l'addition d'une solution de chlorure de platine dans l'alcool méthylique après la dissolution préalable du chlorhydrate de la protamine dans l'alcool absolu.

Nous avons ainsi épuisé les méthodes fondamentales de la préparation des protamines.

Je passe à la description et à l'examen de nos préparations. Nos recherches consistaient principalement dans l'analyse élémentaire des protamines déjà préparées. Je dois ajouter que l'azote était déterminé d'après la méthode de Dumas; C et H par les méthodes ordinaires; on déterminait H_2SO_4 par l'addition de $BaCl_2$ on acidulant par HCl, dans certains cas après avoir fait fondre préalablement avec $Na_2CO_3 + KNO_3$; HCl était détermine par voie pondérale (sous forme de AgCl); Pt aussi par voie pondérale. Dans plusieurs cas les protamines furent titrées d'après Sörensen pour déterminer la quantité de N libre (des groupes de NH_2).

Beaucoup de préparations de la collection ont été perdues. Le groupe de protamines du mois de mai a été le plus riche, il y avait dans ce groupe 3 sulfates, 2 chlorhydrates et 2 chloroplatinates. Du grand nombre des préparations de mois de juin et de juillet nous n'avons eu dans nous mains que quelques: 4 du mois de juillet et 2 de juin[1]).

1) En ce qui concerne la désignation des protamines données, je dois dire que par analogie avec la sturine, la protamine d'*Acipenser sturio*, notre protamine qui provient d'*Acipenser stellatus*, devait être appellée „stellatine" et non pas „acipenserine", comme l'a proposé Kouraïev.

1. Les préparations du mois de mai.

A. Chlorhydrates.

Les chlorhydrates des protamines n'ont pas été decrits jusqu'a présent. Nous avons eu deux préparations; une de ces préparations (№ 4) a été obtenue par la transformation en picrate, l'autre sans transformation en picrate (№ 2).

Dans les deux cas on a pris comme point de départ l'huile de la protamine.

Le schéma de la préparation des combinaisons données est le suivant:

Protamine sous forme d'huile.

№ 4.

1) Picrate d'après Kossel,
2) on obtient le sulfate,
3) on élimine l'acide picrique par le traitement réitéré par l'acétone (jusqu'à la disparition de la nuance jaune),
4) on fait bouillir avec le charbon animal,
5) Les autres opérations comme dans le № 2.

№ 2.

1) on obtient la protamine libre (l'acide sulfurique est éliminée à l'aide de $BaCl_2$),
2) concentration,
3) Dissolution dans l'alcool méthylique absolu que l'on additionne de HCl (l'opération est répétée 3 fois),
4) Précipitation de HCl — protamine par l'éther absolu (précipité blanc floconneux).

Trouvé.		
	№ 4.	№ 2.
C	38,71	39,12
H	7,11	7,08
N	24,56	24,60
HCl	16,70	16,61

Il suit de ces données de l'analyse élementaire dont les différences ne sortent pas des limites des erreurs techniques, que l'on peut obtenir le chlorhydrate de l'huile de la protamine sans la transformer préalablement en picrate.

En outre, l'idendité des préparations obtenues d'après deux méthodes différentes plaide en faveur du caractère individuel du chlorhydrate, à

côté du chloroplatinate et du sulfate. Ce problème ne peut être résolu pourtant que si l'on prend en considération les données de l'analyse élementaire de toutes les préparations en les comparant. Les calculs basés sur toutes ces données fournissent les résultats suivants:

Pour $C_{34}H_{71}N_{18}O_8 . 5 HCl$.	
Calculé.	Trouvé.
C — 39,16	38,91
H — 7,29	7,10
N — 24,20	24,57
Cl — 17,04	16,80
O — 12,30	12,58

B. Chloroplatinates.

Préparés d'après Goto: sans transformation en picrate.

Schema de la préparation.

Protamine sous forme d'huile.

1) protamine libre,

2) concentration,

3) extraction par l'alcool méthylique absolu en acidulant avec HCl,

4) précipitation répétée du chlorure par l'éther absolu,

5) dissolution du chlorhydrate dans l'alcool méthylique absolu (il faut faire remarquer que ce n'est qu'après la précipitation répété que l'on obtient une préparation qui se dissout entièrement dans l'alcool),

6) précipitation de la solution dans l'alcool méthylique par la solution de chlorure de platine dans l'alcool méthylique.

Dans tout ce traitement on a opéré avec deux fractions (préparations №№ 1a et 1b).

1 a	1 b
C — 22,63	21,84
H — 4,20	4,15
N — 13,90	13,99
HCl — 8,40	?
Pt — 24,60	25,70
C : N = 1,628	C : N = 1,561

Il suit des données de cette analyse, que si les préparations sont voisines l'une de l'autre, elles sont loin d'être identiques.

Formule élementaire calculée d'après les données de la préparation № 1 a.

Pour $C_{32}H_{71}N_{17}O_9 . 5HCl . 2PtCl_4$		Calculé pour la sturine de Goto.
Calculé.	Trouvé.	
C — 22,73	22,63	24,26
H — 4,43	4,20	4,50
N — 14,05	13,90	14,19
O — 8,50	8,40	8,56
Cl — 27,85	27,59	25,30
Pt — 23,01	24,60	23,17

En comparant les données de l'analyse élementaire de notre préparation avec la sturine allemande, nous trouvons une certaine différence:

Chloroplatinate de la sturine d'après Goto.	Chloroplatinate de la stellatine.
$C_{34}H_{71}N_{17}O_9 . 4HCl . 2PtCl_4$ C : N = 2 : 1	$C_{32}H_{76}N_{17}O_9 . 5HCl . 2PtCl_4$ C : N = 1,9 : 1

On voit ainsi que dans le chlorhydrate de la stellatine la quantité de carbone diminue, tandis que la quantité de chlore augmente; ce rapport se manifeste d'une manière encore plus prononcée dans la préparation 1b.

Comparons à présent les chlorhydrates de notre protamine avec ses chloroplatinates.

	C : N
1) $C_{34}H_{71}N_{18}O_8 . 5HCl$	1,9 : 1
2) $C_{32}H_{76}N_{17}O_9 . 5HCl . 2PtCl_4$	1,9 : 1

Il n'y pas d'identité; mais le même rapport entre le carbone et l'azote rapproche beaucoup les deux préparations.

Je passe à l'examen des sulfates de la protamine du mois de mai: il y en a trois.

C. Sulfate de la protamine № 5.

On a obtenu cette préparation sans la faire passer par les stades „d'huile" et de picrate.

Poursuivons la préparation de cette protamine parallélement à la préparation des protamines d'après Kossel.

Traitement de la laite d'après Miescher.

Obtention du sulfate par l'extraction par H_2SO_4 à 1% que l'on précipite ensuite par le triple volume d'alcool.

Isolement

d'après Kossel	d'après Kouraïev
1) réprécipitation 1 fois,	1) réprécipitation 4 fois,
2) obtention de l'huile,	2) concentration,
3) transformation en picrate,	3) traitement du sulfate par l'acétone, l'alcool et l'éther. Masse visqueuse.
4) transformation du picrate en sulfate,	
5) extraction de l'acide picrique par l'éther,	
6) précipitation du sulfate par l'alcool. Précipité floconneux.	

Calculé d'après la formule de Kossel, qu'il a proposée pour le sulfate de la sturine, obtenu d'après la méthode décrite ci-dessus.

Pour 4 $C_{36}H_{69}N_{19}O_7 . 11\ H_2SO_4$		
Calculé.	Trouvé.	
C — 37,61	37,66	
H — 6,49	6,70	C : N = 1,9 : 1
N — 23,16	23,00	
H_2SO_4 — 23,46	23,27	

Si, malgré la différence dans la technique, nous obtenons une formule élementaire qui établit l'identité entre la sturine et la stellatine, nous voulons pourtant avant de nous prononcer d'une manière définitive sur le rapport qui existe entre la sturine et la stellatine examiner les préparations du sulfate de la protamine №№ 3 et 6.

Sulfate de la protamine № 3. Schéma de la préparation.

1) „Huile“,
2) picrate,
3) sulfate (précipitation sous forme d'une masse visqueuse), } d'après Kossel.
4) otention de la protamine libre,
5) concentration,
6) obtention du chlorure d'après Goto,
7) transformation en picrate,
8) sulfate.

Pour 2 $C_{32}H_{65}N_{17}O_6 . 5\ H_2SO_4$		
Calculé.	Trouvé.	
C — 37,40	37,04	
H — 6,30	6,58	
N — 23,20	23,04	C : N = 1,9 : 1
O — 9,33	9,20	
H_2SO_4 — 23,95	24,10	

Le trait caractéristique de cette préparation, au point de vue de la technique de son isolement, est que l'on la fait passer par le chlorhydrate et deux fois par les stades de picrate el de sulfate.

Préparation № 6. Schema de l'isolément.

1) „Huile“,
2) obtention du picrate (lavage avec de l'eau),
3) transformation en sulfate par l'addition de H_2SO_4,
4) extraction de l'acide picrique par l'acétone,
5) dissolution dans l'eau et traitement par l'acétone 5 fois (masse visqueuse),
6) protamine libre,
7) chlorure d'après Goto.
8) picrate avec le traitement par l'acétone.
9) sulfate.

Pour 4 $C_{34}H_{69}N_{18}O_6 . 11\ H_2SO_4$.	
Calculé.	Trouvé.
C — 37,27	37,16
H — 6,34	6,59
N — 23,02	22,94
H_2SO_4 — 24,62	24,58

Ce sulfate se caractérise aussi par sa transformation en chlorhydrate et par sa transformation (qui a été faite deux fois) en picrate avec le traitement par l'acétone.

Nous voulons examiner à présent les formules des protamines du mois de mai en prenant en même temps en considération les particularités caractéristiques des modes de leur préparation.

Protamines.

1. Chlorhydrate . . . . — $C_{34}H_{71}N_{18}O_8$
2. Chlorplatinate. . . . . — $C_{32}H_{69}N_{17}O_8$
3. Sulfates de la protamine
   a) obtenu par transformation en chlorhydrate . — $C_{34}H_{69}N_{18}O_6$
   b) obtenu par transformation en chlorhydrate et puis (deux fois) en picrate . . . . . . — $C_{34}H_{71}N_{17}O_9$
   c) sulfate de la protamine sans transformation en huile et en picrate . . . . — $C_{36}H_{69}N_{19}O_7$

En ce qui concerne le chlorure de la stellatine, il est important d'indiquer que la manière dont la préparation a été obtenue n'a pas d'influence sur la formule, ses formules étant identiques et le fait de faire passer le produit que l'on prend comme point de départ (l'huile), par le picrate ou non ne provoquant pas de différences en ce qui concerne la composition élementaire. Le moment qui fait ressortir l'individualité de la substance en question est dans ce cas la précipitation de la solution du chlorhydrate dans l'alcool méthylique par l'éther.

En ce qui concerne les sulfates des protamines, il est important et intéressant de signaler que le passage par le stade du chlorhydrate a rapproché leurs formules élementaires de chlorhydrates et de chloroplatinates.

Une préparation notamment (mai № 6) s'est montrée identique au chlorhydrate, s'en distinguant seulement par l'eau constitutive.

$C_{34}H_{69}N_{18}O_6 + 2H_2O = C_{34}H_{73}$[1]$N_{18}O_8$ — stellatine sous forme de sulfate № 6.

Trouvé pour la chlorhydrate de la stellatine $C_{34}H_{71}$[1]$N_{18}O_8$.

La protamine obtenue par le chlorhydrate avec une purification ultérieure un peu plus compliquée s'est montrée identique au chloroplatinate.

$$C_{32}H_{71}N_{17}O_9 - H_2O = C_{32}H_{69}N_{17}O_8$$

Stellatine par le chlorhydrate que l'on fait passer deux fois par le picrate. — Protamine du chloroplatinate.

1) Erreur de la détermination.

Sans entrer dans des détails, nous avons droit de dire que la passage par le chlorhydrate rapproche leurs formules élementaires jusqu'à l'identité.

Examinons à present le sulfate de la protamine du mois de mai, que l'on à isolé sans le faire passer par le chlorhydrate et les stades de „l'huile" et de picrate.

Il est intéressant que cette préparation s'est montrée identique, au point de vue des résultats de l'analyse élementaire, à la sturine allemande de Kossel.

Nous avons signalé plus haut que l'introduction de telle ou telle modifacation dans la technique fondamentale peut modifier dans une certaine mesure la formule élementaire des préparations des protamines et, inversement, l'identité de la technique de l'isolement rapproche leur composition élementaire.

C'est pourquoi il se pose la question de savoir si à l'identité de la composition élementaire des protamines des esturgeons russe et allemand correspond l'identite des bases fondamentales de la technique de leur isolement.

Extérieurement les méthodes de leur préparation se distinguent fortement: la préparation de Kossel a passé par le stade de „l'huile" et le picrate; notre préparation n'a pas passé par ces deux stades. Il y avait aussi une différence en ce qui concerne les propriétés physiques des sulfates fraîchement précipités: la préparation de Kossel est précipitée sous forme de flocons, celle de Kouraïev sous forme d'une masse visqueuse.

Pourtant il n'est pas difficile de montrer qu'au point de vue théorique ces ceux méthodes différent peu.

En effet, „l'huile" n'est autre chose que la phase liquide du sulfate de la protamine brute non purifiée; en ce qui concerne la passage par le stade de picrate, l'exemple de l'isolement du chlorhydrate nous montre que cette opération ne peut pas avoir d'influence sérieuse, si l'on ne l'applique pas sous forme de la modification de Malenuk[1]).

Le trait caractéristique de la méthode de l'isolement de la sturine d'après Kossel et de notre préparation (la stellatine) est ainsi la reprécipitation du sulfate de la protamine primitif par l'alcool. Vu le fait que la transformation en „huile" a pour but la déminéralisation[2]), on peut remplacer complétement la passage par le stade de „l'huile" par la précipitation réitérée par l'alcool. C'est à cette conclusion que l'on doit arriver en se bassant sur les données analytiques de Malenuk[3]).

1) l. c.

2) Dans les procés verbaux il est noté que lorsqu'on garde „l'huile" pendant un certain temps il se dépose $CaSo_4$.

3) V. plus haut.

Nous devons donc conclure que dans le cas donné les techniques voisines ont rapproché les formules des protamines examinées jusqu'à leur coïncidence:

$$— C_{36}H_{69}N_{19}O_7.$$

Il est nécessaire de dire quelques mots au sujet des préparations du mois de mai № 11a. Malheureusement, dans les procés verbaux manquent les détails concernant la technique de l'isolement de cette préparation, il n'est dit qu'elle a passé par le stade de picrate.

On peut lui attribuer la formule $C_{33}H_{69}N_{17}O_8$.

Pour 4 $C_{33}H_{69}N_{17}O_8 . 11\ H_2SO_4$.	
Calculé.	Trouvé.
C — 35,70	35,77
H — 6,30	6,50
N — 21,60	21,40 C:N = 1,94:1
O — 11,60	11,30
H_2SO_4 — 24,50	25,00

Il est intéressant que l'on n'observe pas d'identité en comparant les données de l'analyse élementaire avec les précedentes.

Par ces préparations la collection du mois de mai est épuisée.

Je passe à la description des préparations des mois suivants du frai.

De cette série se sont conservées 4 préparations du mois de juillet et une du mois de juin.

Les préparations du mois de juillet.

1. № 3. Schema de la préparation.

1) Sulfate primitif (sans précipitation par l'alcool),
2) picrate,
3) dissolution dans l'acétone, d'après Malenuk,
4) précipitation sous forme de sulfate (avec l'addition de H_2SO_4),
5) obtention du picrate,
6) transformation en sulfate d'après Kossel.

La formule élementaire de cette préparation est $C_{33}H_{68}N_{17}O_7$.

Pour $2\,C_{33}H_{68}N_{17}O_7 . 5\,H_2SO_4$	
Calculé.	Trouvé.
C — 37,40	37,20
H — 6,40	6,51
N — 22,40	22,47
H_2SO_4 — 23,93	23,58

La formule élementaire de cette protamine ressemble beaucoup à la formule que Kossel a voulu attribuer à la sturine, mais qu'il a abondonnée, en se basant sur certaines considérations, en faveur d'une autre, bien que l'une et l'autre traduisent également exactement la composition de la protamine.

Calculé par Kossel pour la sturine.	C	H	N	H_2SO_4
$2\,C_{33}H_{61}N_{17}O_7 . 5\,H_2SO_4$	37,64	6,37	22,62	23,29
$4\,C_{36}H_{69}N_{19}O_7 . 11\,H_2SO_4$	37,61	6,49	23,16	23,46
Trouvé	37,42	6,51	22,64	22,69

On voit ainsi que la formule de notre préparation se distingue de la première des formules citées seulement par 7 atomes d'hydrogène.

La comparaison qui suit indique pourtant que notre formule caractérise également bien la préparation de Kossel que les formules qu'il a calculées lui-même.

Pour $2\,C_{33}H_{68}N_{17}O_7 . 5\,H_2SO_4$		
Calculé.	Trouvé.	
	Par Kossel.	Dans nos recherches.
C — 37,40	37,42	37,20
H — 6,40	6,51	6,51
N — 22,40	22,64	22,47
H_2SO_4 — 23,13	22,69	23,58

Il est intéressant encore que, malgré l'emploi de la modification de Malenuk[1]), nous ne pouvons pas constater de grande ressemblance entre la préparation donnée et celle de l'auteur cité.

1) l. c.

Trouvé par Malenuk:

C — 37,36
H — 6,76
N — 20,96
H_2SO_4 — 22,47

Suivant ces données, la formule de la protamine est $C_{27}H_{55}N_{17}O_7 . 2H_2SO_4$.

On voit ainsi que ces résultats se distinguent des nôtres; avant tout saute aux yeux la différence en ce qui concerne la teneur en azote qui sort des limites des erreurs techniques (1,49%).

Comparons ces résultats avec ceux concernant la préparation № 4. Celle-ci a été obtenue d'après la méthode de Kossel avec la modification de Malenuk.

Schema de la préparation de la protamine № 4 du mois de juin:

1) Le sulfate primitif de la protamine,
2) prècipitation par l'alcool,
3) transformation en picrate,
4) dissolution dans l'acétone,
5) précipitation sous forme de sulfate avec l'extraction ultérieure de l'acide picrique par l'acétone.

Calculé pour	C	H	N	O	H_2SO_4
1) $2 C_{34}H_{71}N_{17}O_8 . 5 H_2SO_4$	37,50	6,40	21,80	11,60	22,50
2) $2 C_{34}H_{69}N_{17}O_7 . 5 H_2SO_4$	38,0	6,50	22,2	10,50	22,85
Trouvé	37,85	6,89	21,50	11,00	22,79

Ces données montrent que dans ce cas non plus la modification de Malenuk n'a pas eu d'influence, les préparations se distinguent par leur formule élementaire: d'après Malenuk la formule est: $C_{27}H_{55}N_{17}O_7 . 2H_2SO_4$ (C : N = 2,08 : 1), tandis que nous pouvons attribuer à notre préparation la formule: $2C_{34}H_{69}N_{17}O_7 . [5H_2SO_4]$, c. a. d. la formule calculée par Kossel pour la sturine. On peut voir la cause dans le fait que la méthode de Malenuk a été appliquée dans les deux cas dans une forme abrégée.

C'est pourquoi dans la préparation précédente la technique de Kossel s'est manifestée avec une grande précision, tandis que dans le cas donné, où on a employé une méthode schématisée, nous n'avons pas même observé de bonne coïncidance en ce qui concerne les chiffres; nous avons affaire manifestement à une préparation pas tout à fait pure, mais la ressemblance avec la sturine de Kossel est néanmoins absolue.

Il reste à examiner le sulfate de la protamine № 2 du mois de juillet, que l'on a fait passer par le stade de chlorhydrate.

Nous avons deux fractions (a et b).

Schema de la préparation.

1) Protamine sous forme d'huile,

2) picrate < 1ier précipité — № 2a, 2ième précipité — № 2b,

3) dissolution du picrate en acétone (traces de substances insolubles),

4) transformation en sulfate,

5) lavage du sulfate avec l'acétone,

6) réprécipitation du sulfate par l'acétone (masse visquense),

7) obtention du chlorure d'après Goto,

8) transformation en picrate,

9) dissolution dans l'acétone,

10) précipitation dans l'acétone sous forme de sulfate.

On a soumis à l'analyse la préparation № 2a.

Pour $C_{32}H_{67}N_{17}O_7 . 5H_2SO_4$.	
Calculé.	Trouvé.
C — 36,71	36,40
H — 6,41	6,71
N — 22,75	23,44
O — 10,69	10,29
H_2SO_4 — 23,42	23,22

Comme on le voit, le trait caractéristique de la méthode de l'isolement de cette préparation est la combinaison de la méthode de Kossel modifiée par Malenuk avec la passage par le stade de chlorhydrate (d'après Goto).

En comparant les résultats de nos déterminations avec les données de Malenuk, nous n'observons pas d'identité malgré le fait que nous avons suivi la méthode de Malenuk dans tous ces détails.

Trouvé.	
Dans le cas donné.	Par Malenuk.
C — 36,40	37,64
H — 6,71	6,61
N — 23,44	20,92
H_2SO_4 — 23,22	22,59

Si nous comparons la formule élementaire de la préparation donnée à la formule du chloroplatinate de la protamine du mois de mai, la ressemblance nous frappe:

$$C_{32}H_{67}N_{17}O_7 + H_2O = C_{32}H_{69}N_{17}O_8$$

Protamine № 2a du mois de juillet Chloroplatinate № 1a du mois de mai.

La formule attribuée à la préparation que nous venons de décrire n'exprime pas tout a fait exactement sa composition en $^0/_0$. Il est néanmoins intéressant de signaler que la passage par le chlorure a éloigné cette préparation de celle de Malenuk et l'a rapprochée du chloroplatinate que l'on fait aussi passer par le stade de chlorhydrate. Nous avons obtenu ainsi dans la préparation du mois de juillet un résultat analogue à celui d'une préparation du mois de mai (v. plus haut).

Pour donner au lecteur la possibilité de se mieux orienter dans les résultats obtenue, je cite le tableau général des analyses de différentes préparations.

Les résultats des analyses élementaires de toutes les préparations étudiées sont résumés dans le tableau suivant:

Préparations suivant les mois.	Stellatine obtenue, comme			
	Chlorhydrate.	Chloroplatinate.	Sulfate.	C : N.
Mai	$C_{34}H_{71}N_{18}O_8$	$C_{32}H_{69}N_{17}O_8$	$C_{36}H_{69}N_{19}O_7$	1,90
			$C_{34}H_{69}N_{18}O_6$	1,90
	C : N = 1,9	C : N = 1,9	$C_{33}H_{69}N_{17}O_8$	1,94
			$C_{32}H_{65}N_{17}O_6$	1,90
Juin	—	—	$C_{34}H_{71}N_{17}O_8$	2 : 1
Juillet	—	—	$C_{33}H_{68}N_{17}O_7$	1,94 : 1
			$C_{32}H_{67}N_{17}O_7$	1,90 : 1

Pour pouvoir faire des comparaisons d'une manière plus complète, je cite aussi les formules d'autres auteurs pour la protamine de l'esturgeon russe *(Acipenser stellatus)* et aussi les formules de la protamine de l'esturgeon allemand *(Acipenser sturio)*.

Auteurs.	Stellatine.	Sturine.	
Kossel . .	—	$C_{36}H_{69}N_{19}O_7$	C : N = 1,9
Goto . . .	—	$C_{34}H_{71}N_{17}O_9$	C : N = 2,0
Kouraïev .	$C_{35}H_{72}N_{18}O_9$	—	—
	C : N = 1,94 : 1		
Malenuk .	$C_{27}H_{55}N_{13}O_7$	—	—
	C : N = 2,07		

Les données citées de l'analyse élementaire montrent que les préparations obtenues d'après des méthodes différentes ne présentent pas d'identité au point de vue de leurs formules élementaires; nous constatons partout des oscillations en ce qui concerne la composition des différentes préparations. Ces oscillations sont pourtant peu considérables et l'amplitude des oscillations de C:N n'est pas trop grande (1,9:2,1).

Nous ne constatons pas non plus de différences essentielles en comparant les préparations suivant les mois du frai; parfois même on constate la coïncidence complète des données de l'analyse élementaire.

Puis, en comparant les formules élementaires de nos préparations avec les préparations de mêmes protamines d'esturgeon d'autres auteurs, nous trouvons une différence essentielle en ce qui concerne les formules de Malenuk; cette diffèrence peut être expliquée par l'application des différents modes d'isolement (v. plus haut). En ce qui concerne la formule de la protamine d'esturgeon proposée par Kouraïev au début, elle ressemble beaucoup à la notre dans des conditions comparables, c. a. d. dans le cas où on se sert de la même méthode de préparation.

		C:N
D'après Kouraïev	$C_{35}H_{72}N_{18}O_9$	1,94:1
Notre préparation	$C_{36}H_{69}N_{19}O_7$	1,90:1

Malheureusement, Kouraïev ne signale pas dans son travail auquel mois de l'année appartient la protamine d'esturgeon qu'il a étudiée.

Il s'est montré que le problème du rapport entre les protamines de deux acipenserides — de l'esturgeon allemand et de l'esturgeon russe — est lié au problème de la technique, l'observation permettant constater comme régle que les différentes protamines ne sont comparables qu'à la condition de l'identité de la technique de leur isolement.

Au point de vue biologique il est intéressant qn'en nous servant de la même technique, nous avons obtenu des préparations qui établissent avec une grande probabilité l'identité de la sturine et de la stellatine.

Il reste à comparer les préparations qui présentent des fractions différentes de telle ou telle précipitation de la même technique.

Nous avons deux préparations pareilles (v. plus haut): 1) Chloroplatinate (a et b) et sulfate (a et b).

Chloroplatinate (Mai № 1).
Fractions (Mai № 1).

a	b
C — 22,63	21,84
H — 4,20	4,15
N — 13,90	13,99
HCl — 27,59	la détermination est perdue.
Pt — 24,60	25,70

Sulfate de la protamine (Juillet № 2).

a	b
N — 23,44	23,82
H_2SO_4 — 23,22	22,32

Ces données montrent que les péparations des fractions différentes présentent des différences au point de vue de la composition élementaire; si les oscillations ne sont pas considérables, elles sortent pourtant au délà des limites des erreurs techniques.

Au point de vue de l'étude de la formule élementaire de la protamine ce fait est très important, car il montre avec évidence le caractère relatif de la formule élementaire de la protamine obtenue d'après les méthodes actuelles.

Il est nécessaire de noter enfin un détail analytique concernant la détermination de la quantité d'acide sulfurique dans les sulfates de la protamine. Lorsqu'on la détermine après avoir fait fondre préalablement la protamine avec $Na_2CO_3 + KNO_3$, on obtient des chiffres plus grands que dans le cas où on sépare directement l'acide sulfurique des solutions de la protamine par $BaCl_2$.

Protamine.	% H_2SO_4 lorsqu'on fait fondre avec $Na_2CO_3 + KNO_3$	% H_2SO_4 lorsqu'on détache directement
№ 4 du mois de juin	23,57	22,79
№ 2a du mois de mai	26,13	25,03

En outre, dans le dernier cas il est nécessaire pour obtenir des chiffres égaux de doser rigoureusement proportionnellement à la pesée la quantite de HCl additionné.

Le fait qu'il est très difficile d'obtenir la stellatine, rsp. la sturine en état pur indique que sa composition moléculaire est complexe.

En effet, les recherches de Kossel montrent que tandis que la salmine ne contient que de l'arginine comme acide diaminé qui forme 89% de son poids, la sturine contient les trois réprésentants des bases hexoniques, étant composé de 63 p. 100 d'arginine, 8,4 p. 100 de lysine et 12 p. 100 d'histidine[1]).

En outre, il est démontré que la sturine contient au moins deux acides aminés: la leucine et l'alanine.

Au cours du dernier temps on fait des essais d'aborder la solution du probléme de la structure interne (chimique) des protamines. Ainsi en se basant sur des déterminations quantitatives, A. Kossel et H. Dakin sont arrivés à la conclusion que dans la salmine il y a sur 10 molécules d'arginine 2 molécules de proline, 2 molécules de sérine et 1 molécul d'acide aminovalérianique.

Dans la scombrine il y a sur 6 molécules d'arginine, 2 molécules d'alanine et 1 molécule de proline[2]).

Le fait que $^{8}/_{9}$ de N de la salmine se trouvent dans l'arginine a permis d'élucider d'une manière plus detaillée la structure de la protamine, on a ainsi reconnu la présence d'une combinaison contenant deux groupes d'arginine.

Puis, en se basant sur le fait que les rapports quantitatifs entre l'arginine et les acides aminés ont été les mêmes que dans les produits de l'hydrolyse partielle des protamines, des soi-disant „protones"[3]), Kossel a émis l'opinion que la protamine est un produit de polymérisátion de la protone. Il reste encore á élucider le problème de savoir quel lien existe entre ces combinaisons plus simples.

Il est d'intérêt de citer les expériences de Kossel et Kennaway concernant la nitration de la clupéine[4]). En agissant par un mélange d'acides sulfurique et nitrique à froid on a réussi à nitrer la molécule de la clupéine, il est plus que probable que dans ce cas le groupe NO_2 a été localisé sur le reste de guanidine, c'est pourquoi le groupe amidé de celle-ci dans la clupéine est libre c. à. d. il n'est pas enfermé dans la chaîne polypeptique.

Au point de vue de l'étude de la structure de la protamine comme

---

1) A. Kossel u. Kutscher, *Ztschr. f. physiol. Chemie,* t. 31, 165, 1900. A. Kossel et H. Dakin, ib. t. 44, 342, 1905.

2) A. Kossel u. H. Dakin, *Ztschr. f. physiol. Chemie,* t. 40, 565, 1904 u. Bd. 44, 1905.

3) A. Kossel u. H. Pringl, *Ztschr. f. physiol. Chemie,* t. 49, 301, 1906. A. Kossel и F. Wriss. *Ibid.* Bd. 59, 281, 1909.

4) *Ztschr. f. physiol. Chemie,* t. 72, 486, 1911.

un polypeptide il était intéressant de déterminer la quantité de groupes aminés libres. Nous nous sommes servi de la méthode de Sörensen pour déterminer ces quantités dans les restes des préparations.

On a titré avec du formaldéhyde des sulfates de la protamine neutralisés préalablement par addition de quelques gouttes de $KOH^1/_{5n}$ (essais isolés préalables) vis à vis du tournesol.

On a titré par $KOH^1/_{5n}$ [1 c. c. = 2 mgr. 85 N (NH_2)].

1. Sulfate de la protamine № 2a du mois de juillet.

Ogr. 5205 = 128 mgr. N; on a dissout dans 20 cm. c. d'eau, on a neutralisé avec une quantité calculée. On a ajouté de HCOH neutralisé vis à vis de la phénol-phtaléine. A la titration jusqu'à la coloration rouge nette il a été dépensé 4 cm. c. 1 KOH = 2,85. 4,1 = 11 mgr. 68 N (NH_2) = 9,2 p. 100 N.

2. Protamine du mois de mai № 5.

0,5072 de sulfate de la protamine = 116 mgr. 65 N. Dissout dans 20 cm. c. d'eau, neutralisé. On a ajouté 10 cm. c. de formaldéhyde. A la titration 5 cm. c. KOH = 2 mgr. 85 = 14 mgr. 25 N (NH_2) = 12,22 p. 100 N.

Les données citées indiquent la présence dans les protamines d'une grande quantité de groupes aminés libres, sans compter le groupe amidé du reste de guanidine dans l'arginine qui n'est pas titre, comme on le sait, dans la méthode de Sörensen.

Je dois enfin mentionner que les produits de la digestion profonde tryptique des protamines ont manifesté la propriété de former dans certaines conditions des „plastéines". Malheureusement nous n'avions pas eu à notre disposition assez de substance pour l'étude détaillée de ce phénomène.

Nous espérons étudier prochainement les protamines à ce point de vue.

Tout ce qui précède peut être résumé de la manière suivante:

1. La formule élementaire de la protamine d'Acipenser stellatus oscille suivant les méthodes de la préparation, c'est pourquoi elle n'a qu'une signification relative.

2. Le chlorhydrate de la protamine doit être considéré comme un individu chimique à côte du sulfate et du chloroplatinate.

3. Il n'y a pas de différence essentielle, au point de vue de la composition chimique, entre les protamines de la laitance de l'esturgeon des périodes différentes au point de vue du frai.

4. Les différentes protamines sont comparables à condition d'une technique de préparation complétement identique.

5. La sturine et la stellatine — protamines des différents réprésentants d'acipenserides — sont identiques.

6. Le sulfate de la protamine de l'esturgeon russe contient une grande quantité (10%) d'azote de groupes aminés libres titré d'après la méthode de Sörensen.

7. Dans les recherches qui ont pour but d'élucider la composition et la structure des protamines il est nécessaire de décrire d'une manière exacte la technique dont on s'est servi; il est à désirer que les sulfates, les chloroplatinates et les chlorhydrates soient étudiés parallèlement.

En terminant je considère comme un devoir agréable d'exprimer ma reconnaissance a M-r le Professeur B. Slovtzov pour les préparations qu'il a mises à ma disposition.

Tableau général des analyses.

%	Protamines du mois de mai.								Sulfate de la protamine № 4 du mois de juin.	Protamines du mois de juillet.		
	Chlorhydrates.		Chloroplatinates.		Sulfates.					Sulfate.	Sulfate.	
	№ 4	№ 2	№ 1a	№ 1b	№ 2a	№ 3	№ 5	№ 6		№ 3	№ 2a	№ 2b
C	38.57 38.85 } 38.71	39.12	22.63	21.84	35.60 35.80 } 35.70	37.04	37.90 37.40 } 37.65	37.30 37.12 } 37.21	37.85	37.20	36.40	—
H	7.00 7.17 } 7.08	7.11	4.20	4.15	6.51 }	6.58	6.63 6.78 } 6.70	6.63 6.56 } 6.59	6.89	6.65	6.71	—
N	24.44 24.76 } 24.60	24.54	13.88 13.92 } 13.90	13.99	21.4	22.93 23.15 } 23.04	23.07 22.93 } 23.00	22.77 23.12 } 22.94	21.60 21.40 } 24.50	22.46 22.47 } 22.46	23.44	23.78 23.86 } 23.82
H_2SO_4	—	—	—	—	24.72 25.35 } 25.0 en faisant fondre. 26.13	24.10 24.29 } 24.19	23.10 23.45 } 23.27	24.58	23.00 22.58 } 22.79 en faisant fondre. 23.47 23.67 } 23.57	23.79 23.37 } 23.58	23.22 23.37 } 23.29	22.08 22.56 } 22.32
Cl	16.89	16.70	27.59	?	—	—	—	—	—	—	—	—
Pt	—	—	24.60	25.70	—	—	—	—	—	—	—	—

Calculs.

I. Protamines du mois de mai.

1. Chlorhydrates.

№ 2.

0,1380 gr. 763 mm. — 18⁰,5 C — 28,8 c. c. N = 24,54% N.
0,2137 gr. — 0,3066 CO_2 = 39,12% C; 0,1368 H_2O = 7,11% H.
0,2261 gr. — 0,1521 gr. AgCl = 16,70% HCl.

№ 4.

0,1921 gr. — 766 mm. 20⁰ C — 40 c. c. N = 24,45 % N.
0,1388 gr. — 762 mm. 20⁰ C — 29,4 c. c. N = 24,76% N.
0,2703 gr. — 0,3822 CO_2 = 38,57% C; 0,1704 H_2O = 7,00% H.
0,2154 gr. — 0,3069 CO_2 = 38,85% C; 0,1387 H_2O = 7,17% H.
0,3092 gr. — 0,2026 AgCl = 16,89% HCl.

2. Chloroplatinates.

№ 1 a.

0,2359 gr. — 752 mm. — 20⁰ C — 28,5 c. c. N = 13,88% N.
0,2308 gr. — 757 mm. — 20⁰ C — 27,7 c. c. N = 13,92% N.
0,4400 gr. — 0,3647 CO_2 = 22,63% C; 0,1661 H_2O = 4,20% H.
0,2012 gr. — 0,2244 AgCl = 27,59% HCl; 0,0495 Pt = 24,60% Pt.

№ 1 b.

0,2196 gr. — 770 mm. — 21⁰ C — 26,1 c. c. N = 13,99% N.
0,3245 gr. — 0,2598 CO_2 = 21,84% C; 0,1212 H_2O = 4,15% H.
0,2866 gr. — 0,0788 Pt = 25,7% Pt.

3. Sulfates.

№ 2 a.

0,2430 gr. — 0,3172 CO_2 = 35,60% C; 0,1424 H_2O = 6,51% H.
0,1938 gr. — 0,2550 CO_2 = 35,80% C.
0,1309 gr. — 764 mm. 24,4 c. c. 20⁰ C = 21,4% N.
0,5092 gr. — 0,2991 $BaSO_4$ = 24,72% H_2SO_4.
0,5496 gr. — 0,3313 $BaSO_4$ = 25.35% H_2SO_4.
0,3759 gr. — en faisant fondre avec Na_2CO_3 + KNO_3 — 0,2340 $BaSO_4$ = 26,13% H_2SO_4.

№ 3.

0,1635 gr. — 19⁰ C — 762 mm. — 32 c. c. N = 22,93% N.
0,1648 gr. — 20⁰ C — 743 mm. — 33,5 c. c. N = 23,15% N.
0,2822 gr. — 0,3833 CO_2 = 37,04% C; 0,1673 H_2O = 6,58% H.
0,2514 gr. — 0.1515 H_2O = 6,69% H.
0,5243 gr. — 0,3006 $BaSO_4$ — 24,10% H_2SO_4.
0,4750 gr. — 0,2744 $BaSO_4$ = 24,29% H_2SO_4.

№ 5.

0,1766 gr. — 774 mm. 18⁰ C — 34,1 c. c. N = 23,07% N.
0 1719 gr. — 776 mm. 17⁰ C — 32,8 c. c. N = 22,93% N.

0,3153 gr. — 0,4390 CO_2 = 37,90 C; 0,1881 H_2O = 6,63% H.
0,3019 gr. — 0,4131 CO_2 = 37,40 C; 0,1846 H_2O = 6,78% H.
0,5311 gr. — 0,2916 $BaSO_4$ = 23,09% H_2SO_4.
0,5190 gr. — 0,2894 $BaSO_4$ = 23,45% H_2SO_4.

№ 6.

0,1674 gr. — 752 mm. — 18,5° C — 32,9 c. c. N = 22,77% N.
0,1628 gr. — 769 mm. — 16° C — 31,5 c. c N = 23,12% N.
0,3012 gr. — 0,4119 CO_2 = 37,30% C; 0,1797 H_2O = 6,63% H.
0,2872 gr. — 0,3795 CO_2 = 37,12% C; 0,1596 H_2O = 6,56% H.
0,4174 gr. — 0,2440 $BaSO_4$ = 24,58% H_2SO_4.

II. Sulfates de la protamine du mois de juin.

№ 4.

0,1700 gr. — 757 mm. — 20° C — 32 c. c. N = 21,44% N.
0,1188 gr. — 762 mm. — 20° C — 22,4 c. c. N = 21,60% N.
0,2246 gr. — 0,3115 CO_2 = 37,85% C; 0,1392 H_2O = 6,89% H.
0,2060 gr. — 0,1124 $BaSO_4$ = 22,58% H_2SO_4.
0,4780 gr. — 0,2622 $BaSO_4$ = 23,00% H_2SO_4.
0,2281 gr. — en faisant fondre avec $Na_2CO_3 + KNO_3$ — 0,1273 $BaSO_4$ = 23,47% H_2SO_4.

III. Sulfates de la protamine du mois de juillet.

№ 3.

0,1744 gr. — 20° C — 750 mm. — 34,7 c. c. N = 22,46% N.
0,1678 gr. — 18° C — 773 mm — 32,2 c. c. N = 22.47% N.
0,2987 gr. — 0,4072 CO_2 = 37,20% C; 0,1765 H_2O = 6,65% H.
0,5244 gr. — 0,2967 $BaSO_4$ = 23,79% H_2SO_4.
0,5413 gr. — 0,3009 $BaSO_4$ = 23,37% H_2SO_4.

№ 2 a.

0,1595 gr. — 18° C — 766 mm. 31,5 c. c. N — 23,44% N.
0,3060 gr. — 0,4084 CO_2 = 36,4% C; 0,1848 H_2O = 6,71% H.
0,4754 gr. — 0,2624 $BaSO_4$ = 23,22% H_2SO_4.
0,4493 gr. — 0,2497 $BaSO_4$ = 23,37% H_2SO_4.

№ 2 b.

0,1643 gr. — 18,°5 C — 755 mm. — 33,6 c. c. N = 23,78% N.
0,1540 gr. — 19,°5 C — 757 mm. — 31,6 c. c. N = 23,86% N.
0,4815 gr. — 0,2527 $BaSO_4$ = 22,08% H_2SO_4.
0,5423 gr. — 0,2910 $BaSO_4$ = 22,58% H_2SO_4.



2,5-Dicétopipérazines et la détermination des groupes à NH_2 d'après Sörensen.

Par **P. Glagolev.**

(Laboratoire de Chimie physiologique de l'Institut de Médecine de Femmes).

Dans l'étude de la décomposition fermentative des corps albuminoïdes joue indubitablement un grand rôle la méthode de Sörensen, à l'aide de laquelle nous avons la possibilité de déterminer les quantités de groupes amidés qui caractérisent à chaque moment isolée le mélange donné de produits de transformation[1]).

La mise en liberté graduelle et succesive de groupes amidés liée à l'hydrolyse peut être déterminée d'une manière bien précise à l'aide de cette méthode, et la facilité avec laquelle on peut exercer cette technique donne la possibilité e'étudier differents phénomènes fermentatifs dans des conditions variées.

Nous connaissons ensuite un processus fermentatif qui est accompagné non pas de l'augmentation, mais de la diminution de la quantité de groupes amidés. On observe ce processus dans des solutions concentrées d'albumoses et de peptones sous l'influence de différents ferments albuminoïdes, il est lié à la formation de soi-disant plastéines[2]). L'étude ultérieure du phénomène de la „plastéinisation" (dans le sens large de ce mot) doit passer au domaine des corps chimiquement déterminés et déjá connus, des polypeptides simples et des acides aminés. Il existe déjá sous ce rapport certains essais[3]).

---

1) S. P. L. Sörensen. Enzymstudien. *Biochemisch. Ztschr.*, t. 7, p. 75, 1906.

2) Henriques und Gjaldbäck, *Ztschr. f. physiol. Chemie,* t. 71, p. 485, 1911; t. 81, p. 439, 1912; P. Glagolev. *Bioch. Ztschr.*, t. 50, p. 162, 1913; t. 56, p. 195, 1913.

3) B. Slovtzov, V. Soudakova et P. Glagolev. Sur le problème du chimisme de l'action de la présure. Deuxième communication. *Compt. rend. des séances, de la Société de Biologie,* T. LXXV, p. 539.

Mais alors se pose la question de savoir quels processus chimiques peuvent être liés à la diminution resp. à l'éntrée dans un groupe cyclique des groupes amidés. Théoriquement on peut se réprésenter le cours de ce phénomène de deux manières:

1) La chaîne du polypeptide resp. des polypeptides peut devenir plus long:

$$R.NH_2.CO\boxed{OH + H}HN.R_1COOH \longrightarrow R.NH_2.CO.NH.R_1COOH + H_2O.$$

2) Des groupes cycliques anhydres c. a. d. des soi-disant dicétopipérazines peuvent se former:

$$\text{a)}\quad \begin{array}{ccc} HN & .\,R\,. & CO \\ \boxed{H} & & \boxed{OH} \\ \boxed{OH} & & \boxed{H} \\ CO & .\,R_1\,. & NH \end{array} \longrightarrow \begin{array}{ccc} HN & -R- & CO \\ | & & | \\ CO & -R_1- & NH \end{array} + 2H_2O.$$

$$\text{b)}\quad \begin{array}{l} COOH.R.R_1NH_2 \\ \;| \\ CO\boxed{OH} \end{array} + \begin{array}{l} HN.R_2.COOH - H_2O \longrightarrow \\ \\ \boxed{H} \end{array}$$

$$\longrightarrow \begin{array}{l} COOH.R.R_1NH\boxed{H \quad OH} \\ \qquad\quad | \\ \qquad\; CO.NH.R_2.CO \end{array} \longrightarrow \begin{array}{l} COOH.R.R_1.NH.CO \\ \qquad\quad | \qquad\quad | \\ \qquad\; CO.NH-R_2 \end{array} + H_2O.$$

La réaction du premier type, ainsi que la réaction du 2[ième] type présentent dans leur essence une déshydratation dans le sens large de ce mot, et à ce point de vue le processus fermentatif donné, qui est accompagné de l'entrée des groupes amidés dans un groupe cyclique, est diametralément opposé à la protéolyse.

Pourtant entre les réactions données il y a cette différence essentielle que ce n'est que la 1[ière] qui présente un processus synthétique, tandis que la déshydratation dans la 2[ième] peut ou bien seulement accompagner la synthèse ou bien même avoir lieu tout à fait indépendament.

En d'autres mots, le type de la réaction fermentative est le même suivant les deux schemas; mais l'endroit où le ferment agit sur la molécule d'acides aminés ou des polypeptides change.

Les dicétopipérazines sont très peu étudiées au point de vue biologique, la possibilité de leur formation dans des solutions concentrées des produits de décomposition des corps albuminoïdes doit être prise pourtant en considération. Dans ce cas, ainsi que dans l'étude du rôle biologique des dicétopipérazines en généràl, l'emploi de la méthode de Sörensen peut rendre un service non peu considérable.

Dans les recherches présentes nous avons pour but de constater, si, en effet, comme ou pouvait s'y attendre, en se basant sur la structure chimique, les 2,5-dicétopipérazines présentent des combinaisons qui ne se titrent pas d'après la méthode de Sörensen, c. a. d. qui ne réagissent pas avec le formaldèhyde.

La vérification expérimentale a visé le fait suivant lequel dans des cas isolés le groupe imidé agit avec HCHO comme un groupe amidé (la proline titrée partiellement d'après Sörensen); d'autre part, à la titration avec $^{1}/_{5}{}^{n}$ KOH ou $^{1}/_{5}{}^{n}$ $Ba(OH)_2$ peut avoir lieu une hydrolise partielle des dicétopipérazines qui sont en général extrêmement sensibles à l'action d'alcalis et qui se décomposent dans ce cas avec la formation des dipeptides correspondants.

Dans les premières recherches de Sörensen[1]) nous trouvons une indication, suivant laquelle la glycine anhydre est indifférente par rapport au formaldéhyde; dans les recherches présentes nous avons soumis à la titration différentes dicétopipérazines: les anhydrides de la glycine, de l'alanine, de la tyrosine et de la glycilleucine.

Partie expérimentale.

Nous avons obtenu les dicétopipérazines en nous servant d'acides aminés suivant les indications de E. Fischer[2]); elles ont été identifiées d'après la température de fusion, la solubilité et le % de N (déterminé d'après Kjeldahl).

Les anhydrides solubles difficilement ont été agités avec une quantité déterminée d'eau froide et titrés après l'addition de formaldéhyde neutralisé par $^{1}/_{4}\cdot{}_{5}{}^{n}$ KOH [1 cm. c. = 3.11 mgr. N (NH_2)] vis à vis de la phénolphtaléine.

Habituellement aprés l'addition de 1 à 2 gouttes d'alcali la dissolution des anhydrides devenait compléte; on titrait la solution jusqu'à la coloration rouge nette.

1. L'anhydride de la glycine.

Pour l'obtenir ou a gardé pendant un certain temps l'éther éthylique de l'alanine à la température ordinaire; les cristaux (prismes) formés ont été lavés avec de l'eau froide et de l'éther; ils ont été séchés à vide au dessus de H_2So_4 jusqu'au poids constant.

% N	
Calculé	Trouvé
24,56	24,42

1) l. c.

2) E. Fischer. Untersuchungen über Aminosäure, Polypeptiden und Proteine. Berlin. 1906.

Titration d'après Sörensen.

1) 0.2050 d'anhydride de la glycine = 0 gr. 0503 N, ce qui aurait correspondé à 16 cm. c. 1 KHO $^1/_{4\cdot5}{}^n$ à la titration avec le formaldéhyde, ont été émulsionnés dans 10 cm. c. d'eau; après l'addition de 5 cm. HCOH on a dépensé à la titration KOH $^1/_{4\cdot5}{}^n$:

dans le cas a) 0 cm. c. 10
b) 0 cm. c. 15[1])

quantité liée — 0 cm. c. 5

2) 0 gr. 1790 d'anhydride de la glycine sont dissouts, dans 10 cm. c. de KOH $^1/_{4\cdot5}{}^n$, on a ajouté 1 goutte de phénol-phtaleine et puis 5 cm. c. de formaldéhyde neutralisé; il n'y avait pas de changement de couleur en comparaison avec l'essai de contrôle.

2. Lactimide.

Cette substance a été obtenue de l'éther éthylique de l'alanine chauffé pendant 24 heures dans un tube soudé à 180° C. Les cristaux obtenus (des aiguilles fines) ont été récristallisés de l'eau et lavés avec de l'alcool et de l'éther.

T° de fusion 270° C (sans correction).

% N	
Calculé	Trouvé
19,75	19,90

Pour titrer d'après Sörensen on a pris 0 gr. 1272 = 0 gr. 0242 N, ce qui aurait correspondé à la titration avec le formaldéhyde à 7 cm. c. 8 de KOH $^1/_{4\cdot5}{}^n$; on a émulsionné dans 10 cm. c. d'eau, ajouté 5 cm. c. de formaldéhyde, à l'addition de 2 à 3 gouttes d'alcali les cristaux se dissolvent peu à peu.

A la titration on a dépensé KOH $^1/_{4\cdot5}{}^n$:

dans le cas a) 0 cm. c. 1
b) 0 cm. c. 4

quantité liée 0 cm. c. 3 = 0 mgr. 93 $N(NH_2)$,

ce qui correspond à 0,7 p. 100 de la quantité génerale de N de la préparation donnée.

3. L'anhydride de la tyrosine.

Pour obtenir cette substance on a chauffé durant 22 heures l'éther éthylique de la tyrosine dans un tube soudé. La masse verte jaunâtre obtenue a été bouillie avec l'éther acétique, l'alcool et l'éther et récristallisée de l'eau avec l'emploi du charbon animal pour la décoloration. Les cristaux obtenus avaient une nuance jaunâtre, fondaient, se carbonisaient à 280° C (sans correction).

% N	
Calculé	Trouvé
8,59	8,80

1) a) expériences de contrôle avec de l'eau b) titration par l'anhydride en se servant de mêmes quantités d'eau et de formaldéhyde.

Pour titrer on a pris 0 gr. 1702 = 0 gr. 0150 N, ce qui aurait correspondé à 4 cm. c. 8 de KOH $^1/_{4 \cdot 5}{}^n$ à la titration avec le formaldéhyde; on a émulsionné dans 20 cm c. d'eau et on a ajouté 10 cm. c. de formaldéhyde; à l'addition de 1 à 2 gouttes de KOH dissolution partielle de l'anhydride.

On a dépensé à la titration KOH $^1/_{4 \cdot 5}{}^n$

dans le cas a) 0 cm. c. 1
b) 0 cm. c. 2

quantité liée 0 cm. c. 1 = 0 mgr. 311 N = 0,18 p. 100 de N de l'anhydride.

4. L'anhydride de la glycilléucine.

Cette substance a été obtenue de la glycilléucine qui a été obtenue, á son tour, de la chloracétylléucine, synthétisée à l'aide de la léucine de Kalbaum et du chlorure du chloracétyl. Le dipeptide obtenu a été anhydré par le chauffage durant 10 minutes dans un bain de paraffine à 240⁰ C (T⁰ de fusion du dipeptide). A la récristallisation de l'alcool chaud on a obtenu des aiguilles transparentes extrêmement jolies, difficilement solubles dans l'eau.

% N	
Calculé	Trouvé
16,49	16,58

Pour la titration on a pris 0 gr. 1272 = 0 gr. 0211 N, ce qui aurait correspondé, à la titration d'après Sörensen, à 6 cm. c. 8 de KOH $^1/_{4 \cdot 5}{}^n$; on a emulsionné dans 20 cm. c. d'eau; après l'addition de 10 cm. c. de HCOH et de 2 à 3 gouttes de KOH à $^1/_{4 \cdot 5}{}^n$ dissolution complète des cristaux.

On a dépensé à la titration avec le formaldéhyde

dans le cas a) 0 cm. c. 1
b) 0 cm. c. 3

quantité liée 0 cm. c. 2 = 0 mgr. 622 N,

ce qui correspond à 0,5 p. 100 de N de l'anhydride de la glycilléucine. Le lendemain on n'a pas constaté de changement visible de la coloration.

Les données expérimentales citées plus haut donnent la possibilité de conclure que le 2,5 dicétopipérazines, contrairement aux acides aminés et aux polypeptides, ne réagissent pas pratiquement avec le formaldéhyde et ne se titrent pas d'après Sörensen.

Au problème de l'influence de la pression atmosphérique augmentée sur la composition du sang.

Par **A. Goustcha** (Petrograd).

(Avec 4 tableaux contenant des courbes dans le texte).

Dans la physiologie du sang le problème de l'influence de l'air comprimé sur la composition du sang est encore étudié si peu que même dans les traités contemporains les plus détaillés de l'hématologie ce problème n'est pas traité. Pourtant, au point de vue de la physiologie et de la pathologie du sang, les recherches dans cette direction sont nécessaires pour combler une lacune considérable dans l'étude des différentes propriétés du sang. C'est d'autant plus nécessaire que le chapitre concernant l'action de l'air raréfié a été étudié au cours des 30 dernières années d'une manière bien détaillée et bien que les thèses fondamentales de ce chapitre présentent un objet de disscussion entre des chercheurs isolés, la bibliographie abondante concernant ce problème témoigne de l'intérêt continuel que ce problème suscite encore à présent.

Par rapport à l'abondance de ces recherches combien peu nombreuses sont les données concernant l'action sur le sang de l'air qui se trouve sous une pression supérieur à celle désigné comme pression barométrique normale (environ 760 mm. d'une colonne de mercure sur 1 cm. carré de surface). Les données bibliographiques concernant ce problème ont été exposées d'une manière détaillée dans ma thèse: „Sur l'influence de la pression atmosphérique augmentée sur la composition du sang chez la lapin.“ (1). Je ne veux toucher ici que sommairement ces donnés, je vais citer ensuite les conclusions auxquelles je suis arrivé à la suite de mes études expérimentales.

Vu le fait que les meilleures conditions pour l'étude de l'action d'une haute pression atmosphérique sont créées au cours de travaux qui se font dans des caissons et qui ont lieu dans l'air comprimé, les observa-

tions et les expériences de la plupart des chercheurs qui se sont occupés de cette question ont été faites dans les conditions de ces travaux. Sviontetzky (2) a étudié, le premier, il y a 15 ans, l'influence de la pression atmosphérique augmentée sur la composition du sang en plaçant des lapins dans des caissons sous la pression de 5 à 29 livres [1]) pour un temps de $^1/_2$ à 17 jours. Au cours de ces expériences dans la plupart des cas chez les animaux se développérent des phénomènes d'anémie accompagnés d'une diminution de la teneur du sang en hémoglobine et en globules rouges et souvent aussi d'une leucocytose de courte durée.

Malheureusement les recherches de J. Sviontetzky présentent beaucoup de lacunes; les conditions, dans lesquelles elles ont été effectuées dans la province, à l'absence d'un laboratoire convenable, n'ont pas permis de conduire les expériences de cette manière systématique qui est nécessaire pour la solution d'une question biologique si importante.

Les expériences analogues faites par Soulikovsky (3) dans des caissons sur des lapins bien que moins nombreuses sont plus complètes. Ce travail n'est pas mentionné dans ma thése, c'est pourquoi je veux m'arrêter d'une manière plus détaillée à ses résultats. Quatre lapins sur six, qui ont séjourné 36 à 340 heures sans interruption dans la chambre d'un caisson à une pression de 7 livres $^1/_2$ à 26 livres, ont présenté les phénoménes d'une diminution nette de la teneur du sang en globules rouges et en hémoglobine; chez un de ces lapins on a observé une leucocytose peu considérable le jour où on l'a retiré du caisson. Il faut pourtant faire remarquer que chez les autres lapins on a constaté — immédiatement après le passage dans une atmosphére normale — une augmentation considèrable de la quantité de globules blancs qui n'a pas pris les dimensions d'une leucocytose.

En général, les résultats obtenus par Soulikovsky sont analogues à ceux de Sviontetzky, en établissant dans la plupart des cas l'apparition des phénoménes d'anémie chez les lapins qui ont subi l'action d'une haute pression.

Pendant la période de 10 ans qui a suivi l'apparition du travail de Soulikovsky on n'a pas fait de recherches concernant ce problème (je n'ai pas pu trouver des indications bibliographiques sous ce rapport); ce n'est qu'il y a trois ans que M-me A. Bornstein (6) a publié un travail dans lequel elle a étudié les changements qu'elle a observés dans le sang des animaux (1 singe, 1 chien adulte et 2 jeunes chiens) qui ont séjourné dans un caisson à une pression de 2 atmosphéres pendant 1 mois $^1/_2$ jusqu'à 6 mois. Dans tous les cas on a observé après l'expé-

1) La pression d'une atmosphére correspond à la pression de 15 livres sur 1 pouce carré de surface.

rience une diminution du nombre de globules rouges et de la quantité d'hémoglobine, mais ces deux phénomènes ne marchent pas tout à fait parallèlement. Des observations parallèles sur de jeunes chiens provenant de la même portée et placés à deux dans des conditions différentes notamment: dans un caisson, dans un tunnel et dans des conditions ordinaires ont montré que chez la première série — par rapport aux deux autres — on constate une diminution du pouvoir de l'hémoglobine d'absorber l'oxygène, une augmentation de la quantité générale du sang par rapport au poids du l'animal. Bornstein en déduit que dans ce cas, comme à la chlorose, mais dans un degré plus considérable, il se développe une hydrémie et que, par conséquent, par ce phénomène on doit expliquer la teneur diminuée du sang en globules rouges et en hémoglobine. Il ne faut pas pourtant oublier que ces résultats se rapportent aux jeunes animaux pendant la période de la croissance c. a. d. dans des conditions spéciales de la vie, c'est pourquoi ce serait hasardeux de les vouloir rapporter aux animaux adultes ches lesquels sous l'influence de l'air comprimé se développent des phénomènes d'anémie.

On peut rapprocher de ces recherches expérimentales, qui ont été effectuées dans des conditions de travaux de caissons, les expériences qui ont eu pour but d'élucider l'influence de la teneur augmentée de l'atmosphére en oxygène sur la composition du sang.

A priori on devait déjà supposer que l'influence de la pression atmosphérique augmentée (on diminuée) dépend principalement de l'action de la partie composante la plus active de l'air c. a. d. de l'oxygène ou du degré de la pression partielle de l'oxygène. Sous ce rapport il faut citer les recherches de Sellier (4) et de Régnard (5) qui se rapportent aux dernières années du siècle passé. Ces auteurs placèrent de petits animaux (des cobayes, des caillès et des pigeons) sous la cloche dans une atmosphére, contenant 40 à 60% de O_2 (Sellier) ou même dans une atmosphére d'oxygène pur (Régnard). Sellier n'a pas observé dans le sang de ses animaux de déviations quelconques notables par rapport à la norme aprés un séjour de 6 à 20 jours sans la pression partielle augmentée de O_2; Régnard a constaté une diminution considérable du nombre de globules rouges. Il faut pourtant signaler que le séjour dans l'oxygène pur a eu des conséquences nefastes en ce qui concerne l'état général des animaux: sur 5 animaux qui ont été placés dans ces conditions trois ont péri avant que l'auteur ait pu examiner le sang.

Les données de ces auteurs sont ainsi encore peu nombreuses et pas suffisamment uniformes pour qu'il serait possible d'élucider le mécanisme de l'action de la pression partielle augmentée de O_2 sur la composition du sang et pour faire des analogies entre ces données et les

changements que l'on observe dans le sang sous l'influence de la pression augmentée de l'air.

Les données expérimentales résumées ne sont pas suffisantes pour permettre de résoudre définitivement ce probléme; c'est pourquoi j'ai saisi l'occasion de la descente des caissons à la construction du pont de Palais à Petrograd pour effectuer une série d'expériences qui ont eu pour but l'étude complète du sang chez des lapins soumis à l'action d'une haute pression atmosphérique. Ces expériences, qui ont été décrites dans ma thése, embrassent 26 observations isolées, groupées en 12 séries, dont chaque série de lapins se trouvait dans des conditions différentes en ce qui concerne la grandeur et la durée de l'action de la pression.

Dans la moitié de toutes les expériences les lapins furent placés dans la „chambre de travail“ du caisson pour un temps de 3 à 17 jours à une pression de 28 à 38 livres, dans les autres cas je les plaçai dans une chambre „pneumatique“ pour un temps de 27 heures à 8 jours à une pression de 5 à 38 livres. Le sang a été examiné toujours avant le commencement de l'expérience afin d'établir la norme individuelle de sa composition; ensuite on faisait des examens périodiques à la fin de l'expérience jusqu'au rétablissement de la norme primitive. En outre, dans plusieurs cas on faisait aussi des examens du sang à l'intérieur de la chambre „pneumatique“ sous pression, pour élucider la marche des changements du sang au cours du séjour de l'animal dans l'air comprimé. Mes analyses du sang ont porté sur les propriétés suivantes: quantité d'hémoglobine, nombre de globules rouges et blancs (avec la détermination de la formule leucocytaire), pouvoir de l'hémoglobine d'absorber O_2, poids spécifique, alcalinité et coagulation. Les oscillations du poids des lapins ont été aussi notées.

Les conclusions, auxquelles je suis arrivé à la suite de mes recherches, ont été les suivantes:

1. Sous l'influence de la pression atmosphérique augmentée dans les sang des lapins se produisent les changements propres à l'anémie, c. a. d. la diminution de la teneur en globules rouges et en hémoglobine; il faut ajouter que la quantité d'hémoglobine ne varie pas proportionnellement au nombre de globules rouges et donne, en général, des oscillations plus faibles.

2. Ces changements commencent à se produire déjà dans l'atmosphére de l'air comprimé, mais n'atteignent pas le plus haut degré de développement sous la pression barométrique normale avant 5 à 7 jours aprés la sortie de l'animal de la chambre, la régénération consécutive exige non moins de 10 à 15 jours.

3. Chez la plupart des lapins se développe après le passage dans l'atmosphére normale une leucocytose avec la prédomination des poly-

nucléaires; celle-ci n'atteint pas son maximum avant le 5ième jour et disparaît ensuite rapidement de telle manière qu'on n'observe pas de lien déterminé entre le développement de la leucocytose et la marche des phénoménes d'anémie.

4. Le pouvoir de l'hémoglobine d'absorber l'oxygène augmente sous la pression augmentée et ne tombe qu'aprés le passage du lapin dans l'atmosphère normale, mais cette chute se produit d'une manière plus faible que la diminution de la teneur en hémoglobine.

5. Le poids spécifique du sang ne diminue pas sous l'influence de l'air comprimé, c'est pourquoi, la diminution de la teneur du sang en globules rouges doit être considérée comme réelle, mais pas comme la conséquence de l'hydrémie.

6. L'anémie qui se produit chez les lapins sous l'influence de l'air comprimé est le résultat de la réaction de l'organisme vis à vis de la pression partielle augmentée de l'oxygéne, de même que la polycytémie est la réponse à la diminution de la pression partielle.

Il faut encore ajouter que ces changements peuvent se manifester dans le sang des lapins même à la suite de l'action des pressions peu élevées (5 à 6 livres c. a. d. $^1/_3$ d'atm.) et d'une durée relativement peu considérable (p. e. deux jours).

Par conséquence, mes conclusions confirment, en général, le fait fondamental de l'apparition de l'anémie comme conséquence de l'action de l'air comprimé qui a été signalé par les auteurs précédents et le complétent d'une série de données nouvelles concernant la changements assidents de quelques autres propriétes du sang.

Le tableau de changements que l'on observe dans le sang est ainsi plus complet, mais il existe encore des lacunes et des côtés qui ne sont pas encore suffisamment etudiés.

J'ai pris la décision de m'occuper de quelques unes des questions qui ne sont pas encore élucidées, en saisissant l'occasion de la descente du caisson № 2 du pont de Palais à la fin de l'année passée. Bien que, à la suite de mes travaux et de ceux des chercheurs précédents, le fait de l'apparition de l'anémie sous l'influence de l'air comprimé semblât hors de doute, la technique admise pour ce genre de recherches a pu donner lieu aux objections dans ce sens qu'on n'établissait les changements de le composition du sang sous l'influence de la pression atmosphérique augmentée qu'après le passage de l'animal dans l'atmosphére normale. Et comme ce passage était accompagné de phénoménes pathologiques, provoqués manifestement par la décompression et liés à la présence d'embolies gazeuses dans les vaisseaux et les tissus, il se posait la question de savoir si ces changements dans le sang ne présentent pas le résultat de ce passage si prudemment qu'il soit effectué.

D'autre part, le long séjour des animaux dans la chambre du caisson, où l'humidité et la température de l'air et aussi la teneur en CO_2 sont autres qu'à la surface de la terre et où les conditions de la nutrition des animaux ont pu être troublées par telle on telle cause, a pu suggérer, à son tour, l'idée que l'anémie doit être considérée comme la conséquence de l'ensemble de ces causes.

Ayant en vue la possibilité de pareilles objections j'ai déjà changé au cours d'une de mes expériences précédentes (№ XII) les conditions de l'expérience de telle manière que les résultats ne pussent provoquer plus de doutes à cet égard. Les lapins furent placés dans une chambre spéciale à air comprimé qui se trouvait dans un appartement chauffé et bien aéré, où on pouvait entrer sans abaisser la pression. On pouvait ainsi les nourrir tous les jours et nettoyer les cages, on faisait aussi périodiquement les analyses du sang à l'intérieur de la chambre, la pression durant l'expérience restant constante. Le passage des animaux dans l'atmosphère normale était effectué après l'apparition des changements anémiques dans le sang, qui n'ont pu se trouver ainsi en lien de causalité avec l'acte la décompression. La même expérience a montré que chez aucun de 4 lapins on n'a observé de leucocytose à l'intérieur de la chambre „pneumatique“ et que ce n'est qu'après la sortie de la chambre que ce phénomène s'est développé chez un des lapins, sans autres phénomènes pathologiques assidents. Ayant en vue ce fait, on devait se demander, si la réaction leucocytaire ne présente pas le résultat des changements quelconques dans l'organisme, provoqués par le passage même de l'animal de l'air comprimée dans l'atmosphère normale.

C'est pourquoi il fallait faire une nouvelle expérience dans les mêmes conditions pour *élucider la question de l'origine de la leucocytose provoquée par le séjour dans le caisson, ainsi que pour étudier d'une manière plus détaillée les changements que le sang subit pendant le séjour de l'animal dans l'atmosphère de l'air comprimé.*

L'expérience en question a été faite de la manière suivante: quatre lapins jeunes et sains ont été soumis d'abord à l'observation pendant 10 jours; chaque lapin a été placé dans une cage, tous les animaux recevaient la même nourriture (de l'avoine, de l'herbe et de l'eau), approximativement la même ration quotidienne, leur sang a été analysé plusieurs fois afin d'établir la composition individuelle „normale“.

Puis tous les lapins ont été placès dans une chambre à air comprimé, composée de deux compartiments qui communiquent par une petite porte se fermant hermétiquement de telle manière, qu'on pouvait abaisser on augmenter la pression de l'air à l'aide de soupapes spéciales dans un compartiment (qui communique par une parte se fermant hermé-

tiquement avec l'espace extérieur) sans changer la pression dans l'autre compartiment où se trouvaient les lapins. Pour maintenir l'aération on laisse un peu entreouverte la soupape de ce compartiment de capacité de 6 m. c. 5, où on dirige l'air comprimé des machines. L'air de la chambre était saturé de vapeurs d'eau, la température s'y tient de 16 à 22° R. Dans la chambre se trouvait une table avec une lampe électrique; pour analyser le sang on entre à deux avec un microscope et tout le nécessaire, comme dans un caisson ordinaire; à l'entrée et à la sortie on n'abaisse ou on n'augmente la pression que dans un compartiment, tandis que dans l'autre la pression reste constante.

On changeait l'eau et la nourriture chez les lapins tous les jours de même qu'on nettoyait les cages; une lampe électrique était allumée dans la chambre jour et nuit; les conditions de la vie des animaux restaient ainsi tout le temps les mêmes.

Les animaux ont séjourné dans la chambre 10 jours sans interruption, du 13 au 23 juillet 1913. Au début la pression était de 19 livres; à la sortie des animaux la pression a atteint 27 livres $^{1}/_{2}$ ce qui correspondait à la marche de la pression dans le caisson № 2 que l'on faisait alors descendre. Pour éviter l'influence nuisible de la „décompression", l'abaissement de la pression à la sortie durait 2 h. 35 m. Pendant toute la période de l'action de l'air comprimé on a analysé 4 fois le sang de chaque lapin, à la sortie on a fait encore 3 analyses; chez chaque lapin on a fait ainsi 10 analyses du sang. Toute la période de l'observation a duré dans cette expérience un mois. On n'a observé de phénomènes pathologiques chez les lapins ni à la suite de l'action de l'air comprimé, ni à la suite de la decompression. Les analyses ont porté sur les propriétés et les parties composantes du sang suivantes:

1) poids spécifique, qui a été déterminée d'après Hammerschlag;

2) teneur en hémoglobine, déterminé á l'aide de l'hémomètre de Sahli;

3) pouvoir fonctionnel de l'hémoglobine ou pouvoir d'absorber l'oxygène, déterminé à l'aide de l'appareil de Plesch, décrit dans ma thèse (p. 16);

4) quantité de globules rouges, comptée à l'aide de la chambre de Burker;

5) quantité de globules blancs;

6) formule leucocytaire, en colorant les préparations d'après Leisbman et en comptant au moins 200 globules.

En outre, ou pesait les animaux. Les résultats de toutes ces déterminations sont résumés dans les tableaux (I—IV) et aussi sous forme de courbes (lapin № 1—4).

En comparant les données concernant tous les 4 lapins, nous voyons qu'elles se divisent en 3 groupes, suivant les 3 périodes d'observation.

La première période est la période l'observation avant le séjour dans la chambre pneumatique; la deuxième se rapporte au séjour dans la chambre et la troisième période aux observations après la sortie de la chambre. La durée de chaque période était de 10 jours.

La première période est caractérisée pour tous les lapins par l'augmentation rapide du poids de 17 à 28%, ce qui s'explique par le fait que les lapins étaient trés maigres, lorsqu'ils ont été achetés au marché et que chez nous on les a bien soignés et on les a nourris abondamment.

Parallélement à cette augmentation du poids on a observé chez tous les lapins des changements considérables dans le sang, qui se caractérisent par la diminution du nombre de globules rouges de 10 à 28%, la diminution du poids spécifique du sang et de la quantité d'hémoglobine et la chute du pouvoir fonctionnel. Nous avons ici affaire, à ce qu'il paraît, à une hydrémie relative qui est le résultat de l'absorption abondante des liquides du canal digestif. Cette hydrémie n'est qu'apparente, car nous avons reçu dans ce cas une composition normale du sang pour les lapins, tandis qu'auparavant elle était trop concentrée, „dense“ à la suite du jeûne prolongé[1]).

La deuxième période se caractérise avant tout par la diminution de la teneur du sang en globules rouges; dans trois cas nous avons observé ce phénomène sous la forme accentuée d'une perte de 30 à 45% de la teneur précédente au 7ième—10ieme jour du séjour dans l'air comprimé; dans un cas cette diminution a atteint seulement 15% et se manifestait deux fois par des oscillations passagères, après lesquelles l'équilibre de la composition du sang se rétablissait rapidement de nouveau. Dans ces cas les oscillations du poids spécifique du sang et de la quantité d'hémoglobine étaient peu considérables et ne correspondaient pas aux variations des globules rouges, excepté le lapin № 4 qui a perdu dans la chambre 12% d'hémoglobine.

Au contraire, le pouvoir fonctionnel de l'hémoglobine s'abaisse considérablement dans tous les cas (de 7 à 21%, en moyenne de 13%); cet abaissement commence toujours avant que la diminution du nombre de globules rouges devient sensible. On n'observe pas non

---

1) Une pareille concentration du sang a été constatée dans le travail de P. Lubomoudrov (7) et aussi dans les expériences de S. Krotkov (8) qui a établi l'augmentation du poids spécifique et de la viscosité du sang. Cet auteur arrive aussi à la conclusion que sous l'influence de l'engraissement consécutif le poids spécifique et la viscosité descendent, pour la plupart des cas, au dessous de la norme c. a. d. que dans le sang les parties liquides se rétablissent au point de vue quantitatif plus rapidement que les parties solides.

Tableau I.

Lapin № 1, mâle noir (pattes antèrieures blanches).

1913 Date.	Pression durant l'expérience.	Poids de l'animal en gr.	Poids spécifique du sang.	Teneur en Hb en %.	Pouvoir fonctionnel de Hb en %.	Quantité de globules rouges (en milliers).	Quantité de globules blances.	Teneur en différentes formes de globules blancs en % (chiffres snpérieures) et en nombres absolus (chiffres infér.). Polynucl. pseudoéos.	Polynucl. éosinophil.	Polynucl. basophil.	Formes de passage.	Lympho-cytes (grand. et pet.).	Formes de Türk.	Observations.
4. VII	Pression atm. normale.	1385	1,051	76	100	5,630	11,900	—	—	—	—	—	—	—
8. VII		1745	1,045	57	76	4,670	3,650	52,0 / 1898	0,5 / 18	4,5 / 164	0	42,0 / 1533	1,0 / 37	Normoblastes 2 : 200.
12. VII		1640	1,047	58	80	5,160	3,600	49,0 / 1764	2,5 / 90	7,0 / 252	1,0 / 36	40,5 / 1458	0	—
13. VII	A 6 h. $^1/_2$ du soir l'animal a été placé dans la chambre pneumatique sous la pression de 19 livres.													—
15. VII	+ 20 l.	—	—	58	79	4,730	4,350	—	—	—	—	—	—	—
17. VII	+ 22 l.	1795	1,049	60	75	4,410	3,550	45,5 / 1616	1,0 / 36	8,5 / 302	0	45,0 / 1598	0	—
19. VII	+ 23$^1/_2$ l.	1745	1,050	60	65	5,410	5,000	—	—	—	—	—	—	—
22. VII	+ 26 l.	1785	1,047	60	72	4,350	4,100	54,0 / 2214	1,0 / 41	6,5 / 267	0,5 / 20	37,5 / 1532	0,5 / 21	—
23. VII	A 6 h. 40 m. le lapin a été retiré de la chambre pneumatique à une pression de 27 l. $^1/_2$. L'intervalle, durant lequel on a fait descendre la pression, a été de 2 h. 35 m.													—
25. VII	Pression atm. normale.	1640	1,047	62	66	4,820	4,700	58,0 / 2726	0	9,0 / 423	1,0 / 47	32,0 / 1504	0	—
29. VII		1765	1,052	64	83	5,590	4,600	53,5 / 2461	3,0 / 138	7,0 / 322	0	34,5 / 1587	2,0 / 92	—
2. VIII		1845	1,049	66	80	5,220	3,750	21,0 / 1913	4,5 / 169	5,0 / 188	0,5 / 19	38,0 / 1425	1,0 / 38	Normoblastes 2 : 200.

Tableau II.

Lapin № 2, mâle noire (patte antérieure gauche blanche).

1913 Date.	Pression durant l'expérience.	Poids de l'animal en gr.	Poids spécifique du sang.	Teneur en Hb en %.	Pouvoir fonctionnel de Hb. en %.	Quantité de globules rouges (en milliers).	Quantité de globules blancs.	Teneur en différentes formes de globules blancs en % (chiffres supér.) et en nombres absolus (chiffres infér.). Polynucl. pseudoéos.	Polynucl. éosinophil.	Polynucl. basophil.	Formes de passage.	Lymphocytes (grand. et pet.).	Formes de Türk.	Observations.
4. VII	Pression atm. normale.	1255	1,050	88	102	6,820	5,300	49,5 / 2623	0	4,0 / 212	2,0 / 106	44,0 / 2332	0,5 / 26	—
8. VII		1590	1,047	66	79	4,880	4,100	41,0 / 1681	1,0 / 41	4,5 / 185	0	53,5 / 2194	0	—
12. VII		1580	1,051	60	78	5,510	6,100	58,0 / 3538	0,5 / 31	3,0 / 183	0	37,5 / 2287	1,0 / 61	—
13. VII	A 6 h. $^1/_2$ du soir l'animal a été placé dans la chambre pneumatique sous la pression de 19 livres.													—
15. VII	+ 20 l.	—	—	57	80	5,890	6,100	—	—	—	—	—	—	—
17. VII	+ 22 l.	1690	1,050	62	78	5,800	3,600	29,5 / 1062	0	2,0 / 72	1,0 / 36	67,0 / 2412	0,5 / 18	Polychromatophilie.
19, VII	+ 23$^1/_2$ l.	1640	1,049	64	70	6,030	4,650	—	—	—	—	—	—	—
22. VII	+ 26 l.	1650	1,040	57	69	3,680	4,850	24,5 / 1189	1,0 / 49	1,0 / 48	0	72,5 / 3517	1,0 / 48	Normobl. 2 : 200.
23. VII	A 6 h. 40 m. l'animal a été retiré de la chambre pneumatique à une pression de 27 l. $^1/_2$. L'intervalle, pendant lequel on a fait descendre la pression, a été de 2 h. 35 m.													—
25. VII	Pression atm. normale.	1380	1,044	56	68	4,650	7,100	23,0 / 1633	0	2,5 / 177	1,0 / 71	73,5 / 5218	0	Polychromat. 2 : 200. Normoblastes.
29. VII		1640	1,050	65	84	5,560	3,700	42,0 / 1354	0,5 / 19	4,5 / 167	0	53,0 / 1961	0	—
2. VIII		1665	1,051	65	80	5,530	3,800	55,0 / 2090	0	4,0 / 152	0,5 / 19	40,5 / 1539	0	—

Tableau III.

Lapin № 3, mâle noir (tâche blanche au cou).

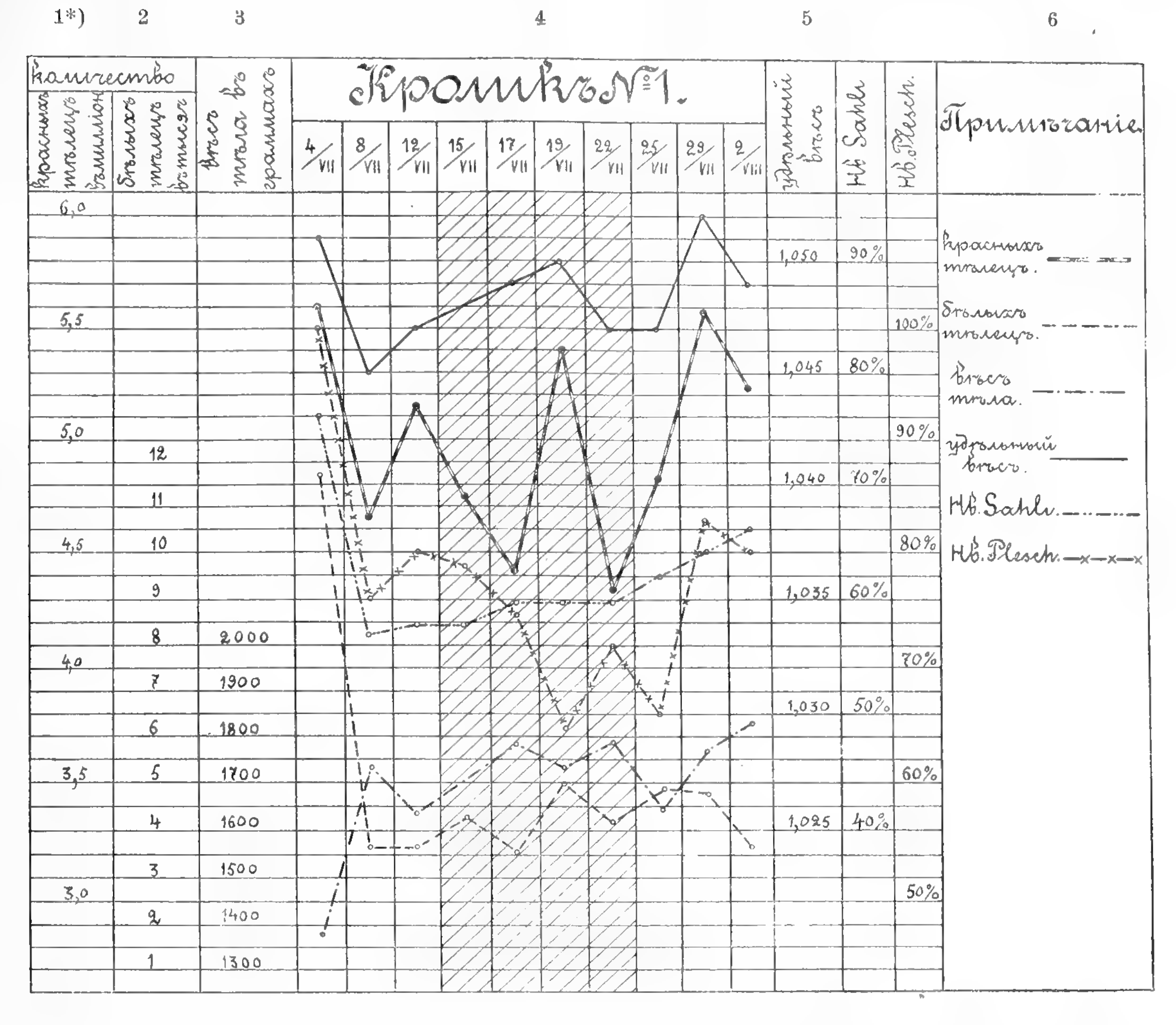
1913 Date.	Pression durant l'expérience.	Poids de l'animal en gr.	Poids spécifique du sang.	Teneur en Hb en %.	Pouvoir fonctionnel en %.	Quantité de globules rouges (en milliers).	Quantité de globules blancs.	Teneur en différentes formes de globules blancs en % (chiffr. supér.), en nombr. abs. (chiffr. infér).). Polynucl. pseudoéos.	Polynucl. éosinophil.	Polynucl. basophil.	Formes de passage.	Lymphocytes (grand. et pet.).	Forme de Türk.	Observations.
4. VII	Pression atm. normale.	1025	1,048	73	90	6,600	5,050	50,0 / 2525	0,5 / 25	8,5 / 430	0	41,0 / 2070	0	—
9. VII		1280	1,050	64	76	5,140	6,750	46,0 / 3105	0	2,0 / 135	1,0 / 67	50,5 / 3413	0,5 / 34	—
13. VII		1330	1,050	60	75	5,660	4,800	28,0 / 1344	1,0 / 48	3,0 / 144	0,5 / 24	67,5 / 3240	0	—
13. VII	A 6 h. 30 m. du soir l'animal a été placé dans la chambre pneumatique sous la pression de 19 livres.													—
16. VII	+ 21 l.	1280	—	64	76	4,710	4,550	—	—	—	—	—	—	—
18. VII	+ 22 l.	1270	1,046	58	71	5,720	6,250	33,5 / 2094	1,5 / 94	8,0 / 500	0	55,0 / 3438	2,0 / 135	—
20. VII	+ 25 l.	1330	1,049	60	68	3,850	7,200	—	—	—	—	—	—	—
23. VII	+ 27,5 l.	1380	1,047	63	70	4,160	7,050	25,0 / 1762	0,5 / 35	6,0 / 423	1,0 / 70	67,5 / 4769	0	Polychromat.
23. VII	A 6 h. 30 m. l'animal a èté retiré de la chambre pneumatique. L'intervalle, pendant lequel on a fait descendre la pression, a été de 2 h. 35.													—
26. VII	Pression atm. normale.	1590	1,053	59	75	4,270	5,900	29,0 / 1711	0	5,5 / 325	0	65,5 / 3865	0	Polychromatophilie. Normoblastes 2 : 200.
30. VII		1385	1,048	61	70	5,560	7,550	65,5 / 4946	1,0 / 75	3,5 / 264	0	29,0 / 2205	1,0 / 575	—
3. VIII		1435	1,049	62	76	5,550	4,400	51,0 / 2244	1,0 / 44	6,0 / 264	0,5 / 22	41,5 / 1826	0	—

Tableau IV.

Lapine № 4, (couleur brun-jaune).

1913 Date.	Préssion durant l'expérience.	Poids de l'animal en gr.	Poids spécifipue du sang.	Teneur en Hb en %.	Pouvoir fonctionnel de Hb en %.	Quantité de globules rouges (en milliers).	Quantité de globules blancs.	Teneur en différentes formes de globules blancs en % (chiffr. supér.) et en nombres absolus (chiffr. infér.). Polynucl. pseudoéos.	Polynucl. éosinophil.	Polynucl. basophil.	Formes de passage.	Lymphocytes (grand. et petit.).	Formes de Türk.	Observations.
4. VII.	Pression atm. normale.	1230	1,057	85	95	6,010	11,600	78,0 / 9448	0,5 / 58	3,0 / 348	0	17,5 / 2030	1,0 / 116	—
9. VII.		1380	1,052	69	85	6,480	5.600	60,0 / 3360	0	2,0 / 112	1,0 / 56	37,0 / 2072	0	—
13. VII.		1435	1,052	68	85	5,370	5,950	—	—	—	—	—	—	—
13. VII.	A 6 h. 30 m. du soir le lapin a été placé dans la chambre pneumatique sous la pression de 19 livres.													—
16. VII.	+ 21 l.	1435	—	61	80	4,940	5,150	—	—	—	—	—	—	—
18. VII.	+ 22 l.	1485	1,047	60	72	5,380	8,650	26,0 / 2249	1,0 / 87	6,5 / 563	1,5 / 130	64,5 / 5580	0,5 / 43	Normoblastes 2 : 200
20. VII.	+ 25 l.	1535	1,047	59	64	3,300	6,750	38,0 / 2565	2,0 / 135	5,0 / 338	0	54,0 / 3645	1,0 / 68	Normoblastes 3 : 200. Polychrom. faible.
23. VII.	+ 27,5 l.	1590	1,048	56	68	2,980	4,300	45,5 / 1957	0,5 / 21	7,0 / 301	0,5 / 21	45,5 / 1957	1,0 / 43	—
23. VII.	A 6 h. 40 m. le lapin a été retiré de la chambre pneumatique. L'intervalle, pendant lequel on a fait descendre la pression, a été de 2 h. 35 m.													—
26. VII.	Pression atm. normale.	1540	1,047	57	67	4,665	5,800	33,5 / 1943	0	7,0 / 406	0	59,5 / 2451	0	Normoblastes 1 : 200.
30. VII.		1640	1,049	59	77	5,640	6,050	36,0 / 2178	1,0 / 61	4,0 / 242	1,0 / 61	58,0 / 3509	0	Normoblastes 6 : 200.
3. VIII.		1690	1,050	65	83	5,680	8,100	—	—	—	—	—	—	—

1*) 2 3 4 5 6



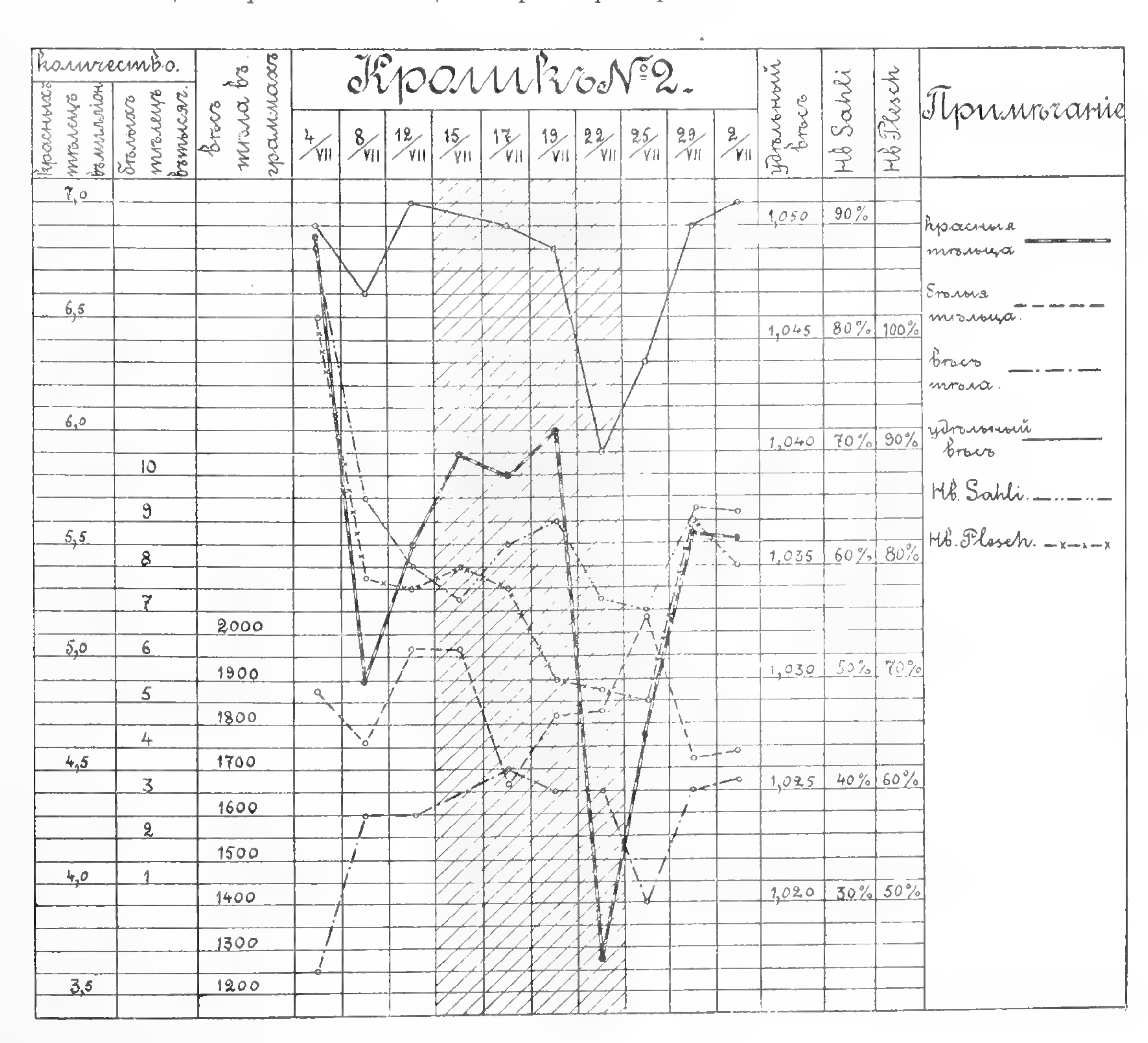
7

8

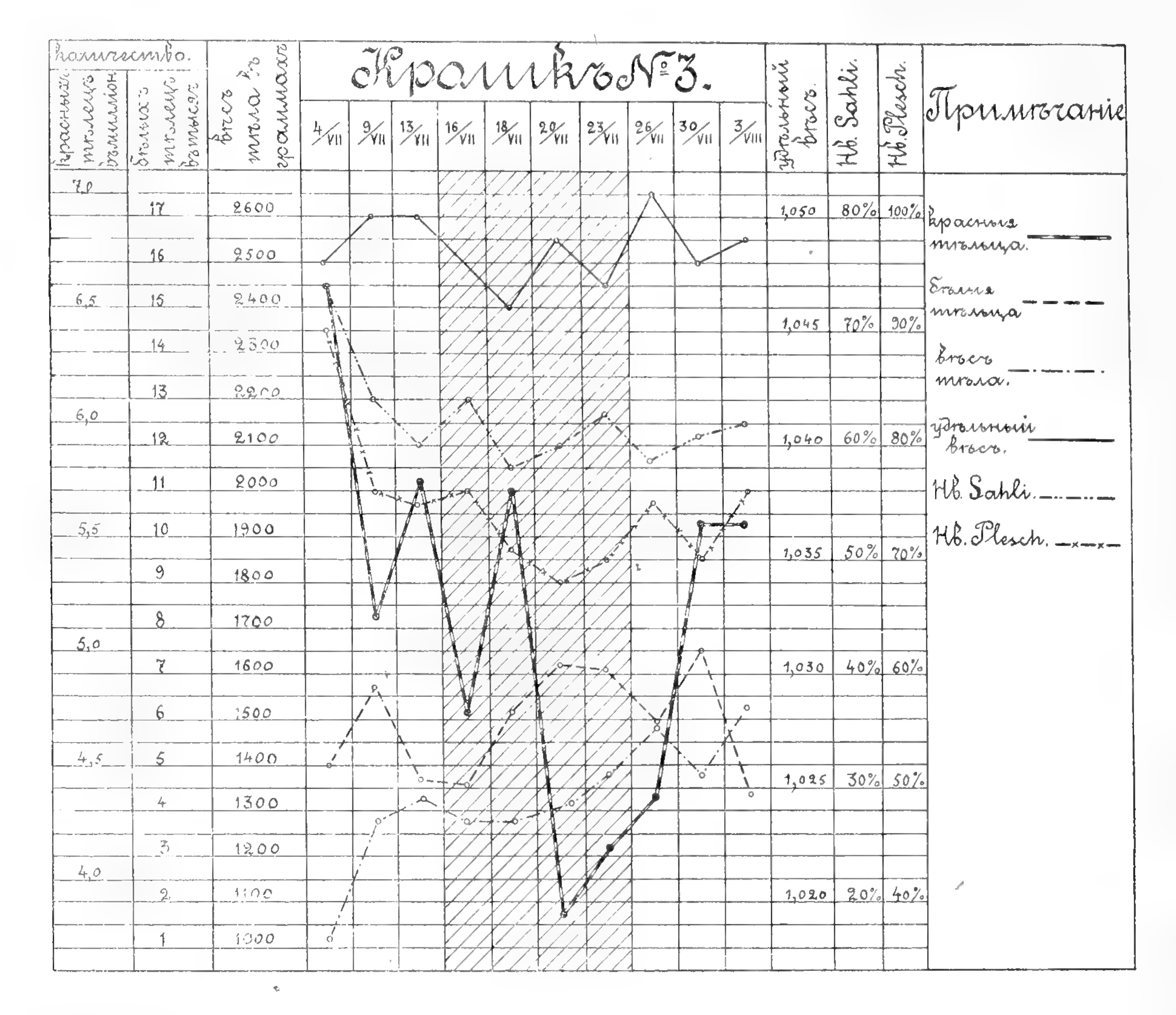
9

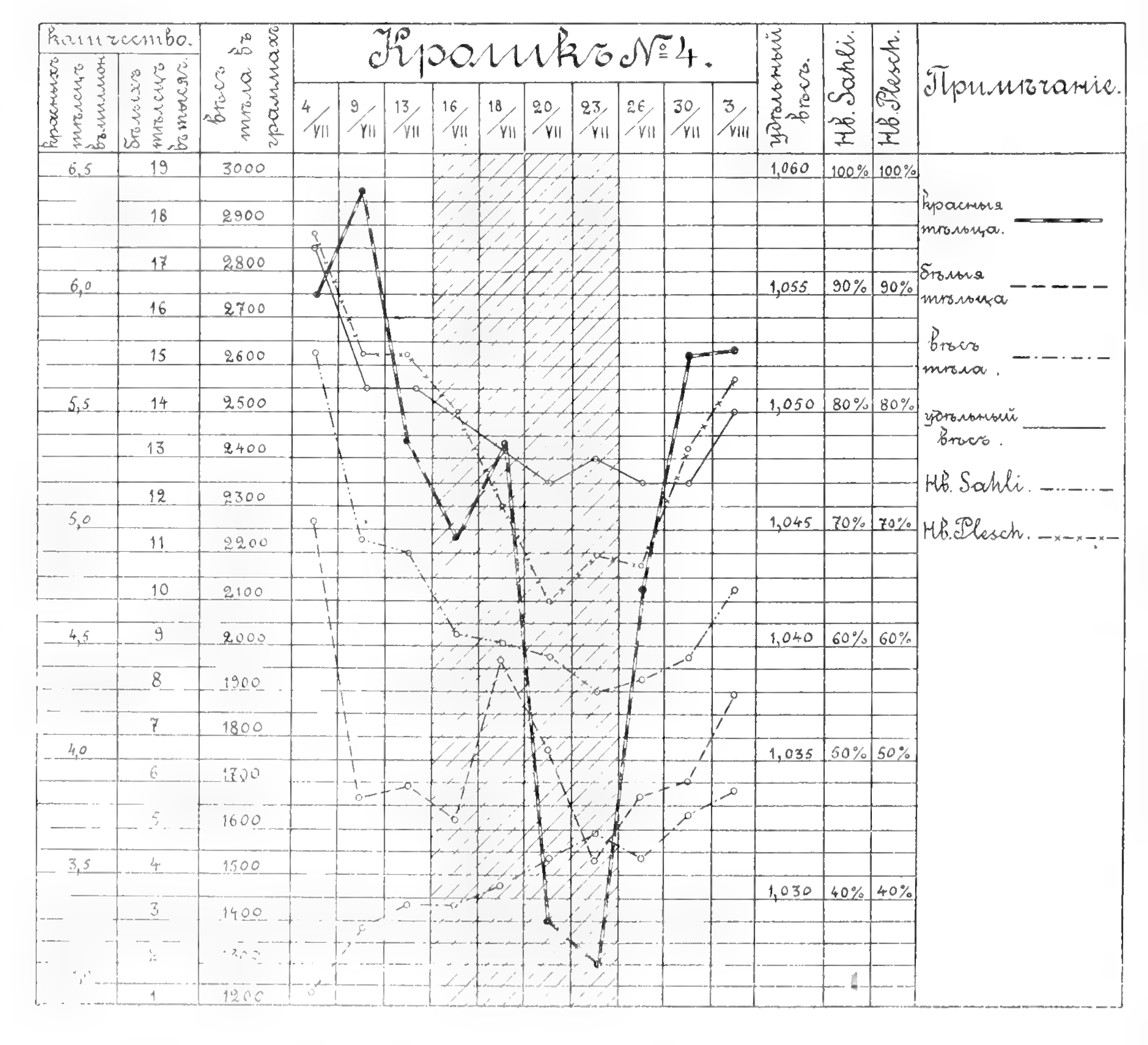
10

*) Sur les tableaux avec les courbes toutes les explications sont faites en langue russe; nous les avons numérotées et nous donnons les traductions correspondantes pour le lecteur français : 1 — quantité de globules rouges en millions ; 2 — quantité de globules blancs en milliers ; 3 — poids de l'animal en grammes ; 4 — lapin ; 5 — poids spécifique ; 6 — légende ; 7 — globules rouges ; 8 — globules blancs ; 9 — poids de l'animal ; 10 — poids spécifique.






Количество.
красныхъ тѣлецъ въ милліонахъ
бѣлыхъ тѣлецъ въ тысячахъ
вѣсъ тѣла въ граммахъ
Кроликъ №3.
4/VII
9/VII
13/VII
16/VII
18/VII
20/VII
23/VII
26/VII
30/VII
3/VIII
удѣльный вѣсъ
Hb. Sahli.
Hb. Plesch.
Примѣчаніе
красныя тѣльца
бѣлыя тѣльца
вѣсъ тѣла.
удѣльный вѣсъ.
Hb. Sahli.
Hb. Plesch.
1,050 80% 100%
1,045 70% 90%
1,040 60% 80%
1,035 50% 70%
1,030 40% 60%
1,025 30% 50%
1,020 20% 40%


Количество.
красныхъ тѣлецъ въ милліонахъ
бѣлыхъ тѣлецъ въ тысячахъ
вѣсъ тѣла въ граммахъ
Кроликъ №4.
4/VII
9/VII
13/VII
16/VII
18/VII
20/VII
23/VII
26/VII
30/VII
3/VIII
удѣльный вѣсъ.
Hb. Sahli.
Hb. Plesch.
Примѣчаніе.
красныя тѣльца.
бѣлыя тѣльца
вѣсъ тѣла.
удѣльный вѣсъ.
Hb. Sahli.
Hb. Plesch.
1,060 100% 100%
1,055 90% 90%
1,050 80% 80%
1,045 70% 70%
1,040 60% 60%
1,035 50% 50%
1,030 40% 40%

plus de parallélisme régulier entre le degré de l'abaissement de ce pouvoir et l'oscillation du nombre de globules rouges; ainsi, chez le lapin № 1 le pouvoir fonctionnel diminue de 15% et le nombre de globules rouges diminue de 18%, tandis que chez le lapin № 4 on constate une diminution de 11% et de 33%.

Puis, chez les lapins №№ 2, 3 et 4 on observe, à côté d'une oligocytémie bien prononcée, des changements du côté de la formule leucocytaire qui consistent dans une diminution considérable du nombre de pseudoéosinophiles polynucléaires avec le renforcement quantitatif simultané du groupe de lymphocytes. Il est intéressant que ces changements se manifestent plus tôt que la diminution de globules rouges.

En même temps apparaissent aussi des normoblastes, et on observe une polychromatophilie plus ou moins grande des globules rouges.

Le poids des lapins reste au cours de cette période stationaire ou augmente de 100 à 150 gr.

Au cours de la troisième période on observe le retour du sang à sa norme individuelle, établi avant le placement des animaux dans l'atmosphère de l'air comprimé. Ce rétablissement de la composition antérieure a lieu 6 à 7 jours après le passage des lapins dans l'atmosphère normale; dans ce cas toutes les propriétés retournent à la norme en même temps; ce n'est que chez le lapin № 4, où l'oligocytémie s'est manifestée d'une manière très prononcée, que le retour à la norme de l'hémoglobine et de son pouvoir fonctionnel se fait quelques jours plus tard que le rétablissement de la quantité normale de globules rouges.

L'analyse scrupuleuse des changements du sang qui se produisent à la suite du séjour des lapins dans une chambre à air comprimé a ainsi confirmé d'une manière démonstrative le fait du développement, sous l'influence d'une pression atmosphérique augmentée, d'une anémie plus ou moins prononcée, qui se caractérise principalement par la diminution de la quantité de globules rouges et aussi, dans un degré moins accentué, de l'hémoglobine; la teneur du sang en hémoglobine reste ou bien au niveau antérieur, ou bien continue à s'abaisser encore, lorsque le nombre de globules rouges a commencé déjà à augmenter. Ce fait a été signalé par moi dans mon travail précédent (p. 84); il peut être expliqué par la teneur abaissée en hémoglobine des globules rouges formés au cours de la période de la régénération qui donnent un index colorimétrique peu élevé et manifestent sous le microscope une polychromatophilie.

En ce qui concerne les changements du côté du pouvoir fonctionnel de l'hémoglobine, les données de cette expérience présentent des différences par rapport aux expériences précédentes. Dans les expériences antérieures „le pouvoir de l'hémoglobine d'absorber l'oxygène sous l'influence

de la pression augmentée augmente et ne tombe qu'après la sortie du lapin", tandis que dans cette expérience il est très sensible à l'action de l'air comprimé, s'abaissant dans la chambre pneumatique avant le commencement de la diminution du nombre de globules rouges et de la quantité d'hémoglobine. En outre, le degré de l'abaissement de ce pouvoir a été, en général, dans les expériences précédentes moins prononcé que la diminution de la quantité d'hémoglobine; à présent, au contraire, il est beaucoup plus accentué dans tous les cas. Il est vrai que le temps du séjour des lapins dans la dernière expérience a été plus prolongé et la diminution des globules rouges a été plus accentuée; mais dans la marche générale, de ces changements reste tout de même une certaine particularité, qui consiste dans une sensibilité augmentée, je dirais, dans l'absence de la stabilité en ce qui concerne les propriétés de l'hémoglobine „d'absorber l'oxygène" dans une atmosphère de l'air comprimé. Cette différence au point de vue des résultats de l'analyse est difficile à expliquer, mais le fait lui-même se rélève bien sur toutes les courbes de la derniére expérience et il faut compter avec lui comme avec un fait ètabli exactement.

Au point de vue de la finalité ou de l'utilité on peut le comprendre, car la tendance de l'organisme à abaisser son pouvoir d'absorber O_2 en présence d'une pression partielle élevée de l'oxygène est trés naturelle. Il est plus difficile de comprendre en quoi consiste l'essence de cette diminution utile du pouvoir fonctionnel de l'hémoglobine en présence d'une plus grande stabilité du côté de la teneur quantitative en hémoglobine. Cette absence d'une correspondance entre la quantité de l'hémoglobine du sang et son pouvoir fonctionnel ne plaide pas en faveur de la conception de Hüffner, suivant laquelle l'hémoglobine est un corps chimique indépendant ayant une structure spéciale, un poids moléculaire déterminé, une teneur en fer déterminée et une propriété spéciale constante de fixer l'oxygène en quantité de 1 cm. c. 34 sur 1 gr. d'hémoglobine.

Hüffner obtient ce chiffre, comme la moyenne d'une série de déterminations, qui oscillent entre 0 cm. c. 8 et 2 cm. c., ce qui témoigne déjà de la variabilité de cette propriété de l'hémoglobine. Selon Bahr, dans le sang qui circule se trouvent 4 hémoglobines différentes, dont chacune posséde un pouvoir différent d'absorber l'oxygène dans la quantité de 0 cm. c. 6 jusqu'à 2 cm. c. 7. Bien que cette opinion soit contestée par beaucoup de savants, il reste tout de même établi que, si l'on compare les déterminations de différents auteurs, la grandeur de l'absorption de O_2 par l'hémoglobine chez l'homme oscille (Brugsch) (9) de telle manière que la différence atteint 40%; certains auteurs obtiennent aussi des chiffres différents, suivant l'état du sang étudié. Ainsi Mohr (10) a trouvé (à l'aide de l'analyse des gaz) chez des ani-

maux, contenant 10 à 15 gr. d'hémoglobine dans 100 cm. c. de sang, un pouvoir d'absorption de 1 cm. c. à 1 cm. c. 6 de O_2 pour 1 gr. d'hémoglobine, tandis que dans le sang pauvre en hémoglobine ce pouvoir augmente jusqu'à 2 cm. c. Au contraire, dans le sang avec une teneur excessive en hémoglobine (29 à 31 gr. pour 100 cm c.), en présence de la poliglobulie, on a observé un abaissement de ce pouvoir jusqu'à 0 cm. c. 9 et même jusqu'à 0 cm. c. 78. „En prenant en considération la possibilité des changements dans la qualité de l'hémoglobine que l'on fait sortir en dehors des vaisseaux" dit Mohr, „on doit tout de même reconnaître la possibilité de l'apparition dans le sang en état pathologique des processus qui changent l'hémoglobine et son pouvoir de fixer l'oxygène".

Puis la courbe de dissociation de l'hémoglobine c. a. d. le rapport entre l'absorption de CO ou O_2 et la tension du gaz, d'après Bohr, A. Löwi et N. Zuntz, Bornstein et Müller (11) est très variable, car elle est très influencée par des conditions telles que la tension de CO_2 ou de différents autres acides de l'objet que l'on étudie. C'est pourquoi, en prenant en considération ces différences en ce qui concerne le transport de O_2 par le sang aux tissus, nous ne pouvons admettre pour tous les cas une même courbe de dissociation ni pour O_2, ni pour CO; il faut établir cette courbe dans chaque cas isolé pour l'échantillon donné, parce qu'elle dépend de beaucoup d'autres conditions, et non seulement de la structure physique et chimique de l'hémoglobine. Les recherches de Douglas, J. S. Haldane et J. B. S. Haldane (2) prouvent aussi cette spécifité des formes de la courbe de dissociation de OHb et COHb et sa dépendance de CO_2. Les différences concernant le degré de l'affinité relative vis à vis de O et CO dans différents échantillons de l'hémoglobine indiquent, selon leur opinion, que la structure moyenne de la globine de la molécule de l'hémoglobine varie non seulement avec l'espèce, mais aussi avec chaque individu de la même espèce. Le processus de la fixation de O et de CO par l'hémoglobine est aussi influencé fortement par la température et la lumiére. Selon les recherches de H. Hartridge (13), le minimum de l'absorption de CO (33 à 42%) à été obtenu à la lumière solaire, le maximum (88 à 96%) à la lumière électrique et à l'obscurité. L'augmentation de la température du milieu diminue le pouvoir de fixation de l'hémoglobine vis à vis de CO de telle manière qu'à l'augmentation de la température de 1^0 correspond une diminution du pouvoir d'absorption de $^1/_2$%.

Peut être, ce fait a joué un certain rôle dans l'analyse du sang dans la chambre pneumatique, où la température atteint 21^0 à 22^0 R, tandis que dans l'expérience analogue précédente (an mois de février de l'année passée) elle n'a pas dépassé 12^0. Mais cette différence n'aurait pu donner qu'un abaissement du niveau général des grandeurs trouvées

pour le pouvoir d'absorption vis à vis de l'oxigène, mais pas une diminution constante et progressive de ce pouvoir.

C'est pourquoi il faut supposer, que le rôle principal et décisif dans les phénomènes décrits concernant le pouvoir fonctionnel de l'hémoglobine est joué par des causes ayant un caractère purement biologique et lièes au sang lui-même, comme par exemple la consommation augmentée de l'oxygène par les globules rouges nouvellement formées dans le sang des animaux anémisés (Morawitz) (14) ou l'hémolyse insuffisante des globules rouges, qui possédent une résistance élevée chez des animaux anémiques (Morawitz et Pratt (15). Il nous était impossible d'entreprendre des recherches spéciales pour élucider à fond ces processus biologiques.

Nous nous sommes arrêté d'une manière plus détaillée aux changements du pouvoir fonctionnel de l'hémoglobine, ceux-ci jouant, à ce qu'il paraît, un rôle important dans l'adaptation de l'organisme aux conditions variables de la pression atmosphérique et présentant, par conséquent, un intérêt considérable. Malheureusement, vu l'absence compléte des données de cette sorte dans les recherches concernant l'action de la pression atmosphérique augmentée ou abaissée sur le sang, nous n'avons pas la possibilité de faire, sous ce rapport, une étude comparée en prenant en considération les résultats obtenus au cours de nos recherches. Nous ne pouvons utiliser à cet effet que quelques donnés fragmentaires trouvées dans les travaux de Régnard (pigeons) et Ad. Bornstein (jeunes chiens), qui ont déterminé dans plusieurs cas le pouvoir de l'hémoglobine de fixer O_2 et ont signalé que ce pouvoir a été au dessous de la norme; mais ces données ont été obtenues pour des animaux avec des phénomènes d'anémie bien prononcés.

Nous devons aussi ajouter que nous n'avons pas de raisons suffisantes, comme le fait A. Bornstein, d'expliquer par l'hydrémie la diminution du pouvoir fonctionnel de l'hémoglobine chez nos lapins, car les oscillations du poids spécifique du sang dans nos cas ont été peu considérables.

Enfin, comme nous l'avons vu, les changements du côté des globules blancs du sang ne se manifestaient dans l'expérience donnée qu'en ce qui concerne la formule leucocytaire, tandis que leur quantité générale n'a subi d'oscillations prononcées ni pendant le séjour des animaux dans l'air comprimé, ni après leur sortie dans l'atmosphére normale. D'une part, ce fait confirmait l'absence d'une leucocytose dans la chambre pneumatique, fait que j'ai constaté dans mes expériences précédentes; d'autre part, il ne concordait pas avec les résultats antérieurs des analyses du sang effectuées déjà sous la pression atmosphérique normale, lorsqu'il s'est manifesté souvent une leucocytose plus ou moins prononcée, Vu le fait que la leucocytose n'était pas observée (même une seule fois) dans la chambre pneumatique, mais seulement

exclusivement après le passage de l'animal dans l'atmosphère normale, il y a beaucoup de raisons, ainsi que je l'ai déjà fait, de se demander, si cette leucocytose n'est pas entraînée par l'acte même de la décompression c. a. d. de la diminution de la pression.

Désirant vérifier expérimentalement cette supposition, je plaçais deux lapins dans une chambre pneumatique pour 6 heures sous la pression de 34 à 35 livres, puis en 12 à 15 minutes la pression a été abaissée jusqu'à la normale, sous laquelle les lapins restaient aussi 6 heures, ensuite on augmentait de nouveau la pression jusqu'au maximum, dans les limites indiquées plus haut, et les animaux restaient dans l'air comprimé encore 6 heures. Cette opération a été répétée 5 fois et toutes les fois la décompression a été faite avec la même rapidité estimant que l'intervalle de 12 à 15 minutes n'est pas suffisant pour l'élimination complète du gaz, absorbé sous la pression élevée, du corps du lapin et que, par conséquent, chez les lapins doivent avoir lieu les suites nuisibles de la décompression, peut être sous forme d'une leucocytose. Je n'ai pas appliqué de diminution plus rapide et plus nuisible, car je craignais perdre les lapins.

J'ai utilisé pour cette expérience les lapins №№ 1 et 2 qui ont déjà passé par la première expérience, mais qui ont été complétement sains et dont la composition du sang est devenu complétement normale. Le sang a été analysé chez eux avant le placement dans la chambre pneumatique et ensuite deux fois après l'action de la pression augmentée (on faisait agir la pression augmentée 5 fois, chaque fois pendant 6 heures). Le tableau suivant (V) montre les résultats de l'expèrience.

Tableau V.

1913	Lapin № 1				Lapin № 2			
	19/VIII		22/VIII	28/VIII	19/VIII		22/VIII	28/VIII
Poid de l'animal en gr.	2025	Du 20 au 22/VIII le lapin a été cinq fois dans la chambre pneumatique sous la pression de 34 à 35 livres, chaque fois pendant 6 heures.	1950	1845	1765	Du 20 au 22/VIII le lapin a été 5 fois dans la chambre pneumatique sous la pression de 34 à 35 livres, chaque fois pendant 6 heures.	1775	1740
Teneur en Hb en % .	70		67	61	70		61	58
Pouvoir fonct. de Hb (pouvoir d'absorb. O_2)	87		80	80	94		84	76
Quantité de globules rouges (en milliers)	5970		6300	5820	6640		5060	5410
Quantité de globules blancs	4350		3400	3750	7000		4550	3900
Formule leucocytaire:								
Pseudoéosinophiles polynucléaires	48,0		73,5	49,0	57,5		29,5	19,0
Eosinophiles polynucl.	3,0		1,5	3,5	1,0		0	0,5
Basophiles polynucl. .	5,5		3,0	6,0	4,5		3,0	2,5
Formes de Türk . . .	1,0		0	1,0	0		1,0	1,5
Lymphocytes grands	15,0		12,5	10,5	19,0		10,5	10,0
„ petits .	27,5		9,5	30,0	18,0		55,5	66,5

On voit ainsi que chez le lapin № 2, même après une telle action (pas prolongée et de temps en temps interrompue) de la pression augmentée se manifestent déjà des phénomènes d'anémie, consistant dans une diminution du nombre de globules rouges de 1600 mille, une diminution de la teneur en hémoglobine de 12% et un abaissement du pouvoir de l'hémoglobine d'absorber l'oxygène de 18%. Chez le lapin № 1, chez lequel on n'a pas constaté de diminution du nombre de globules rouges, il y avait pourtant une diminution de la teneur en hémoglobine de 9% et un abaissement du pouvoir fonctionnel de 7%.

Quant à la leucocytose, elle n'a pas été observée, malgré la décompression rapide, une seule fois.

Cette expérience ne nous apporte pas ainsi la solution de la question intéressante de la leucocytose „de caisson", qui doit, à ce qu'il paraît, être considérée comme un phénomène accidentel, ne se trouvant pas en lien direct avec l'action de l'air comprimé. D'autre part, les données de cette expérience confirment l'opinion émise par nous dans notre travail antérieur (v. thèse p. 62), selon laquelle „en présence d'une certaine instabilité du sang, ou plutôt de sa sensibilité vis à vis de l'influence de la pression augmentée, chez le lapin peuvent se manifester des changements anémiques même à une petite augmentation de la pression barométrique, si même l'action de cette pression est d'une courte durée". Cette influence de la sensibilité s'est manifestée surtout chez le lapin № 2 qui a réagi dans cette expérience, ainsi que dans l'expérience précédente, à l'augmentation de la pression d'une manière bien prononcée par des changements du sang, tandis que le lapin № 1 s'est montré dans l'un et l'autre cas peu sensible à l'action de la pression augmentée, en maintenant assez fermement la composition quantitative des élements figurés du sang.

Le fait même des changements anémiques bien prononcés à la suite des actions courtes et répétées de l'air comprimé sur l'organisme pouvait paraître à priori peu probable, car on pouvait supposer que l'effet de la pression augmentée est compensé chaque fois par l'influence rétablissante de la pression atmosphérique normal equi le suit; cette supposition a été suggérée par les recherches de Heller, Mager et Schrötter (16), qui n'ont trouvé de changements notables dans le sang des ouvriers travaillant dans des caissons ni aprés un séjour de quelques heures dans le caisson ni aprés un travail de trois mois (par équipes, que l'on faisait monter et descendre tous les jours).

Au contraire, les données de Sviontetzky qui a analysé le sang de dix ouvriers travaillant dans des caissons et l'expérience de Soulikovsky, qui plaçait un lapin dans un caisson chaque fois pour 6 heures en laissant des intervalles de 6 heures, pendant lesquels l'animal restait dans l'atmosphère normale, plaident en faveur de la possibilité du déve-

loppement de l'anémie sous l'action de la pression augmentée avec interruption. Au cours de dernières années des données ont été publicées, qui prouvent que l'action de la pression partielle de l'oxygène de courte durée agit d'une manière sensible sur la composition du sang, en diminuant la quantité de globules rouges. Sous ce rapport, il faut indiquer le travail de Koranyi (17), qui cite l'observation de Kovacs concernant un malade atteint d'un sténose innée de l'artére pulmonaire et de la persistance du foramen ovale avec une cyanose et une polycytémie accentuée (9 millions 6 globules rouges). Sous l'influence de chaque inhalation de l'oxygène le nombre de globules rouges diminuait d'abord d'une manière très forte (de 1 mil. 4, 0 mil. 4, 0 mil. 7) et au cours des inhalations suivantes beaucoup plus faiblement, à mesure que le sang approchait de la composition normale. Koranyi pense que cet effet est causé par l'influence de l'oxygène sur le processus de la régénération des globules rouges.

Le même auteur a traité un cas de polyglobulie avec 7 millions 4 de globules rouges par l'inhalation de l'oxygène tous les jours pendant 6 jours et il a abaissé leur nombre jusqu'à 6 millions.

Des résultats analogues ont été obtenus par I. Bence (18) qui a traité 3 cas de polyglobulie par l'inhalation de O_2 (50 à 100 litres chaque fois) et qui a obtenu une diminution du nombre de globules rouges de 1 million à 1 mil. 5.

Des recherches faites dans les montagnes du Tatra ont montré aussi que la polyglobulie de montagnes disparaît après l'inhalation de l'oxygène.

Enfin, on peut citer en faveur de ce fait les données récentes de A. Solovtzov (19), qui a analysé le sang de 57 ouvriers qui ont travaillé dans des caissons à la construction du pont Alexis sur l'Amour et a constaté presque chez tous les ouvriers des changements plus ou moins prononcés du sang, consistant dans la diminution de la quantité de globules rouges et d'hémoglobine; à la diminution de la teneur du sang en ces élements correspondait une augmentation du nombre de lymphocytes (jusqu'à 50 %) et une diminution des polynucléaires (jusqu'à 30%). Malgré ces déplacements concernant la formule leucocytaire, il n'a été observé qu'une fois une leucocytose vraie chez un ouvrier atteint du „coup de caisson".

J'ai analysé le sang chez 5 ouvriers atteints de différentes formes de maladie de caisson et qui ont, par conséquent, éprouvé l'action nuisible de la décompression avec la mise en liberté de l'azote dans les tissus, mais je n'ai constaté dans aucun cas d'augmentation de la quantité de leucocytes.

Les données citées ci-dessus ne plaident pas ainsi en faveur de la

supposition, suivant laquelle la leucocytose post-caissonière présente la conséquence du passage de l'animal ou de l'homme de l'atmosphère à une pression augmentée dans l'atmosphère normale, c. a. d. son apparition ne peut pas être expliquée seulement par l'acte de la décompression avec le développement dans l'organisme des boules de gaz libres.

Comment se répresenter la marche de ce processus, grâce auquel nous obtenons chez les animaux et chez l'homme un état d'anémie sous l'influence d'une pression atmosphérique augmentée?

Pour nous rendre compte de phénomènes qui ont lieu dans l'organisme dans ces conditions, nous devons faire remarquer tout d'abord que l'anémie, en général, peut présenter ou bien le résultat d'une destruction renforcée des globules rouges ou bien le résultat de l'affaiblissement du processus de leur régéneration.

Dans le premier cas il peut s'agir ou bien de la destruction directe des globules rouges dans le sang ou bien d'un processus renforcé de leur destruction dans les organes, où ils sont détruits dans des conditions normales.

Nous devons rejeter la première supposition, parce que dans nos recherches nous n'avons pas constaté dans le sang des animaux qui ont été exposés à l'action d'une pression élevée, de symptômes de désagrégation des globules rouges, nous n'avons pas trouvé non plus de pigment sanguin dans leur urine.

On peut plutôt admettre la deuxième possibilité qui ne contredit pas les idées contemporaines concernant le processus normal de la mort des globules rouges dans le foie et la rate (Quincke). Cette possibilité est encore plus fondée, si on prend en considération la théorie de la destruction des globules rouges que Lintavrev (20) a établi, en se basant sur ses recherches histologiques. Selon l'opinion de cet auteur, dans les conditions normales le processus de la destruction des globules rouges se fait grâce à l'englobement de ces globules par des cellules spéciales de la rate, que l'auteur a trouvées et a désignées comme „érythrophages". Ils se désagrégent, en partie, dans la rate même, en partie, ils sont emportés par le sang dans le foie, où ils sont détruits dèfinitivement. La moelle osseuse remplace les globules détruits par des globules rouges nouveaux, parmi lesquels nous trouvons: des polychromatophiles, des érythroblastes et aussi des macro- et microcytes. Au développement des états d'anémie, occasionnés par des poisons, produits dans l'organisme même ou pénétrant du dehors, les poisons provoquent la multiplication renforcée des „érythrophages" (provenant des corpuscules de Malpighi de la rate) et alors le processus de l'englobement et de la

destruction des globules rouges marche tellement vite que la moelle osseuse ne peut pas élaborer de globules rouges en quantité suffisante pour compenser la perte des élements vieux mûrs.

Si l'on interprète la pathogénèse de l'anémie de telle manière, on comprend la marche particulière des changements du côté du sang qui a été observée habituellement chez nos lapins, notamment le fait que la quantité de l'hémoglobine et son pouvoir fonctionnel commençaient à diminuer longtemps avant l'abaissement net du nombre de globules rouges. Au point de vue de la théorie citée, cette constatation peut être expliquée par le fait que le renforcement du processus de la régénération des globules rouges dans la moelle osseuse, provoqué par leur destruction renforcée, peut pour longtemps compenser leur diminution seulement au point de vue quantitatif, mais pas au point de vue qualitatif, car les jeunes élements pas complètement mûrs se distinguent par la teneur peu considérable en pigment, dont en outre, le pouvoir de fixer l'oxygène est, à ce qu'il paraît, abaissé. Comme phénomène initial qui donne l'impulsion au dévéloppement de tous les autres, on doit considérer dans ce cas l'action irritante dirécte de la pression partiélle augmentée de l'oxygène sur les corpuscules de Malpighi de la rate, réagissant à cette action par la production renforcée d'„érytrophages".

Cette explication se rapproche de la conception, suivant laquelle le développement de l'anémie est la suite de l'action „plasmotrope" de quelques poisons sur les globules rouges (Gravitz (21); ceux-ci ne s'hémolysent pas dans le courant sanguin, manifestant ici même une résistance élevée (Morawitz et Pratt), mais sont „sensibilisés" par les poisons et subissent, par conséquent, une désaggrégation renforcée dans le foie et la rate.

Quoi qu'il en soit, nous voyons que cette deuxième supposition est plausible, car elle est fondée sur une série de faits établis; en outre, elle s'accorde bien avec la marche des changements du sang qui avait lieu le plus souvent chez nos animaux.

En nous adressant à présent à notre troisième supposition sur l'affaiblissement du pouvoir néoplasique de la moelle osseuse, nous devons reconnaître qu'elle n'est pas bien fondée, car elle ne s'appuie que sur l'hypotése, émise par Miescher (22) pour l'explication de la polycytémie sous l'influence de la pression atmosphérique abaissée (dans les montagnes). Cet auteur parle de l'action irritante de la pression partielle abaissée de l'oxygène sur l'activité hématopoïétique de la moelle osseuse; par analogie on peut supposer que la pression augmentée de O_2 arrête les processus hématopoïétiques. Cette théorie est simple et compréhensible, mais malheureusement ce n'est qu'une hypothése qui ne s'appuie pas sur des faits vérifiés, c'est pourquoi nous ne voulons pas la discuter ici.

Ainsi les théories de Grawitz et de Lintavrev, en faveur desquelles plaident des faits bien établis, nous donnent la clef pour l'intelligence de l'essence des phénomènes qui se produisent dans le sang sous l'influence de la pression atmosphérique augmentée.

L'existence de ces phénomènes d'anémie s'accorde bien avec les changements que l'on observe à la suite dè l'action de la pression barométrique abaissée sur l'organisme. Ces changements, comme on sait, grâce aux travaux de Viault, Müntz, Miescher, Schoumann et Rosenquist et de beaucoup d'autres, consistent dans l'augmentation rapide de la quantité de globules rouges (polycytémie, polyglobulie) et d'hémoglobine c. a. d. présentent l'inverse de ce qu'on observe dans le sang à l'augmentation de la pression barométrique au dessus de la normale.

Bien que des auteurs isolés, comme Grawitz (23) et puis Morawitz (14), Durig (24), Laquer (25) contestent la présence du fait de la polycytémie, la considérant comme apparente, il faut tout de même, selon de nombreuses autres recherches, considérer ce fait comme établi.

En ce qui concerne le facteur qui joue le rôle principal dans l'action de la pression abaissée, il faut depuis Paul Bert considérer comme tel la pression partielle abaissée de l'oxygène, ce qui est prouvé par les expériences de Régnard, Sellier et d'autres auteurs. Dernièrement O. David (26) a publié les résultats de ses expériences intéressantes, dans lesquelles, en faisant inhaler un air contenant 10% d'oxygène aux animaux anémisés ou aux malades atteints d'anémie, il obtenait une augmentation rapide de la quantité de globules rouges et d'hémoglobine. Il a traité par cette méthode 6 cas d'anémie pernicieuse du type de Birmer et a obtenu dans 3 cas une guérison compléte et dans 1 cas une amélioration, 2 cas se sont terminés par la mort des malades.

Si la préssion partielle abaissée de O_2 excite la formation des globules rouges, les expériences de Régnard et les observations cliniques de Koranyi et de Bence citées plus haut prouvent que la pression partielle augmentée gène la fonction hématopoïétique.

C'est pourquoi en parlant de l'action de la pression atmosphérique sur la composition du sang nous devons, selon les données citées, n'avoir en vue que l'action de la pression partielle de l'oxygène, que présente la partie composante chimique la plus active de notre atmosphère, mais non pas l'action de la pression atmosphérique comme telle.

En prenant en considération tout ce qui est dit plus haut nous pouvons faire les conclusions suivantes:

1. Le développement des phénomènes d'oligocytémie sous l'influence

du séjour dans l'air comprimé chez l'homme et chez les animaux doit être considéré comme fait bien ètabli.

2. La teneur du sang en hémoglobine diminue aussi habituellement sous l'influence de l'air comprimé, mais dans une mesure qui ne correspond pas à la diminution des globules rouges; parfois les oscillations de l'hémoglobine ne sortent pas des limites normales.

3. Le pouvoir de l'hémoglobine d'absorber l'oxygène dans l'atmosphère de l'air comprimé n'est pas constant; dans certains cas il manifeste une grande stabilité, malgré la diminution de la teneur du sang en hémoglobine, dans d'autres, au contraire, son équilibre est facilement rompu et il diminue plus tôt qu'il ne se manifeste la diminution du nombre d'érythrocytes.

4. L'anémie qui se développe chez les lapins sous l'influence de la pression atmosphérique augmentée ne peut pas être expliquée par la destruction directe des élements figurés par l'air comprimé.

5. La période de la régénération consécutive du sang dans l'atmosphére normale exige un temps de 1 à 2 semaines.

6. La leucocytose que l'on observe dans certains cas après le passage des animaux dans l'atmosphére normale doit être considérée comme un phénomène consécutif et accidentel qui n'est pas lié directement au développement de l'anémie, ni à l'action nuisible de la décompression.

7. L'oligocytémie, comme résultat de l'action de la pression atmosphérique augmentée, et la polycytémie, comme résultat de la pression barométrique abaissée, présentent des réaction utiles vis à vis de l'augmentation et de la diminution de la pression partielle de l'oxygène.

Bibliographie.

1. A. Goustcha, Sur l'influence de la pression atmosphérique augmentée sur la composition du sang des lapins. Thèse, St. Petersbourg 1913.
2. J. Sviontetzky, L'anémie de caissons. *Vestnik Obstchestvennoi Guiguiény,* mars, 1893.
3. F. Salikowski, Stan zdrowotny robotnikow kesonowych. *Czasopismo lekarskie,* т. IV, № 3, 1902 г.
4. Sellier, Contribution à l'étude de l'influence de la tension de l'oxygène sur la hématopoièse etc., Bordeaux, 1895.
5. P. Régnard, La cure d'altitude. 1897 (Masson).
6. A. Bornstein, Über den Einfluss der komprimierten Luft auf die Blutbildung. *Pflüger's Archiv,* т. 138, 1911.
7. Lubomoudrov, Les changements du sang et de certains organes au cours du jeûne. Thèse, St. Petersbourg 1893.

8. S. Krotkov, L'influence du jeûne et de l'engraissement consécutif sur la viscosité du sang. *Roussky Vratch,* 1911, p. 1608.
9. T. Brugsch, Ueber Hämoglobinbestimmungen bei Menschen, *Folia haematolog.,* B. IX, стр. 201, 1910.
10. Mohr, Ueber die Blutcirculation anämischer Individuen. *Verhandlung des Congresses f. inn. Medicin in Wiesbaden,* 1905, стр. 226.
11. F. Müller, Ueber den derzeitigen Standpunkt der Lehre von den Eigenschaften des Hämoglobins. *Folia haematolog.,* B. XIV, H. 3, 1913.
12. Douglas, J. S. Haldane and J. B. S. Haldane, The lows of combination of Hb. with CO and O. *The Journal of Physiol.,* vol. XLIV, 1912.
13. H. Hartridge, The action of various conditions on carbon-monoxid-Haemoglobin. *The Journal of Physiol.,* vol. XLIV, стр. 22, 1912.
14. P. Morawitz, Höhenklima und Blutregeneration. *Deutsch. medic. Wochenschr.,* т. I, стр. 389, 1910.
15. P. Morawitz und J. Pratt, Einige Beobachtungen bei experiment. Anaemien. *Münch. med. Wochenschr.,* стр. 1817, 1908.
16. Heller, Mager u. Schrötter, Luftdruckerkrankungen. 1900.
17. A. v. Koranyi, Physikalisch-chemische Untersuchungen über Sauerstofftherapie. Handbuch der Sauerstofftherapie v. Max Michaëlis, 1906.
18. J. Bence, Drei Fälle von Polyglobulie mit Milztumor. *Deut. med. Wochenschr.,* стр. 1451, 1906.
19. A. Solovtzov. Au problème de l'influence des travaux dans des caissons sur la composition du sang. *Roussky Vratch* 1914.
20. N. Lintavrev, La destruction des globules rouges dans la rate et le foie dans des conditions normales et pathologiques. *Roussky Vratch,* 1911, p. 1616.
21. E. Grawitz, Klinische Pathologie des Blutes. 1911.
22. F. Miescher, Ueber die Beziehungen zwischen Meereshöhe und Beschaffenheit des Blutes. *Korrespond.-Bl. f. Schweiz. Ärzte,* № 24, 1893.
23. E. Grawitz, Ueber die Einwirkung des Höhenklimas auf die Zusammensetzung des Blutes. *Berlin. klin. Wochenschr.,* № 33 и 34, 1895.
24. A. Durig, Physiolog. Wirkungen des Höhenklimas, *Wiener klin. Wochenschr.* стр. 908, 1911.
25. F. Laquer, Höhenklima und Blutneubildung. *Deutsches Archiv f. klin. Medicin,* B. 110, стр. 189, 1913.
26. O. David, Die therapeutische Verwertung sauerstoffarmer Luft bei Anaemien. *Deut. Archiv. f. klin. Medicin,* B. 109, 1913.



Sur une nouvelle moisissure du genre Penicillium produisant un pigment.

Par **M-me O. Grigoriev-Manoïlov** et **M-elle N. Poradélov.**

(Laboratoire de Bactériologie des Cours Supérieurs de Femmes, pour l'étude des Sciences Naturelles à Petrograd).

(Avec une figure dans le texte et une planche).

Au mois de mars de l'année 1914, au cours des analyses des terres russes au point de vue de leur teneur en bactéries fixant l'azote, nous avons trouvé dans une culture une moisissure qui a coloré le milieu nutritif en rouge foncé avec une nuance violette. Cette moisissure s'est développée dans un milieu nutritif liquide contenant de la mannite (milieu de Beyerinck pour l'*Azotobacter chroococcum*), ensemencé avec des échantillons de terre provenant du gouvernement de Kharkov. Un échantillon a été pris dans un jardin fruitier, l'autre dans une terre argileuse et sabloneuse colorée (par de sels de fer) en rouge.

L'aspect des conidies a montré dés le début qu'il s'agit d'une moisissure appartenant au genre *Penicillium*.

Le pigment se trouvait principalement dans le mycélium, mais passait aussi, en partie, en solution. On observait aussi des grains de pigment en dehors des cellules, surtout dans les milieux solides. Il a été trés facile d'obtenir la moisissure en culture pure.

Le genre *Penicillium* auquel appartient notre moisissure est, comme on sait, très répandu dans la nature. Il a été créé au commencement du siècle passé par Linck et décrit d'une manière détaillée par Loew[1]) et Brefeld[2]). On lui a donné le nom de *Penicillium*, en se

1) E. Loew. Entwickelungsgeschichte von Penicillium, *Jahrbücher f. wiss. Botanik*, t. 7, 1869.

2) Brefeld. Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze. Leipzig 1874, (Fasc. 2).

basant sur l'aspect de ses hyphes conidiennes qui se ramifient en forme d'un pinceau et qui se terminent par des chapelets de conidies.

En 1893 Wehmer[1]) a décrit un genre spécial de *Cytromyces*, dont les réprésentants possédaient la propriété de former l'acide cytrique des matières hydrocarbonées. Au point de vue morphologique, ils se distinguaient du *Penicillium* par leur appareil fructifère qui n'était pas ramifié et formaient ainsi un chaînon intermédiaire entre les genres *Penicillium* et *Aspergillus*. Dierckx[2]) a proposé de réunir dans le genre de *Eupenicillia* les moisissures avec l'appareil fructifère en forme d'un pinceau et des hyphes conidiennes ramifiées, tandis que celles ayant des hyphes conidiennes faiblement ou non ramifiées forment le groupe d'*Aspergilloides* (synonyme de *Cytromyces*). Westling[3]) s'en tient aussi à cette classification. Notre moisissure appartient au genre *Aspergilloides*, ses hyphes conidiennes n'étant pas ramifiées ou présentant rarement des ramifications peu considérables. Au bout des hyphes conidiennes qui ne sont pas renflées en massues, il y a 3 à 5 stérigmates en forme des quilles. Les sterigmates se terminent par des longs chapelets de conidies. La fig. 1 réprésente l'appareil conidien de notre moisissure.

Le mycélium se répand rapidement à la surface du milieu solide, sans former de colonie compacte; si l'on porte la semence au centre d'une boîte de Petri contenant un milieu solide, le mycélium forme une jolie colonie concentrique. Dans de vieilles cultures, on constate sur le tapis formé par les mycéliums des „gouttes d'eau", colorées parfois en couleur de rose ou en jaune. Le mycélium est cloisonné; dans les hyphes larges de 2 à 5 μ se trouvent des grains de pigment. A la coloration avec le bleu de méthylène on voit bien des granules métachromatiques; elles se trouvent aussi dans les hyphes fructifères et dans les conidies.

Le nombre de conidies dans chaque chaînette est très grand, il y en a parfois plusieurs dizaines. Les conidies sont complètement rondes et assez petites, leur diamètre est de 2 μ 2 à 2 μ 5. Dans les chaînettes elles sont serrées les unes contre les autres. La membrane des conidies consiste de deux couches; sa surface n'est pas ridée. A la germination des conidies il en sort 1 à 2 filaments (fig. 1).

Pour observer la germination nous portâmes sur un couvre-objet stérilisé une goutte de milieu en gélose et nous ensemençames la surface (de la gélose solide) avec une émulsion de conidies. Une série de couvre-objets pareils fut placée dans une boîte de Petri stérilisée gardée

---

1) Wehmer. „Beiträge zur Kenntnis einheimischer Pilze". 1893, (Fasc. I).

2) Dierckx. *Ann. Soc. scientif. de Bruxelles*, t. 25, 1901.

3) Westling. Ueber die grünen Species der Gattung Penicillium, *Arkiv för Botanik*, t. 11, p. 1.

dans une chambre humide. Il est préférable de faire ces observations à une température de 20° à 25° C pour éviter la dessication et la germination trop rapide. Habituellement la surface de la gélose se couvrait d'un feutre tendre, après quoi on plaçait le couvre-objet sur un porte-objet creusé, comme une culture en goutte pendante. Pour l'observation, il est plus commode de porter l'attention sur les bords de la „goutte", où la couche mince de la gélose ne gêne pas l'observation microscopique et où on voit distinctement les filaments avec les hyphes conidiennes. Il est commode d'observer les premiers stades dans une goutte de milieu liquide, enfermée dans une chambre humide.

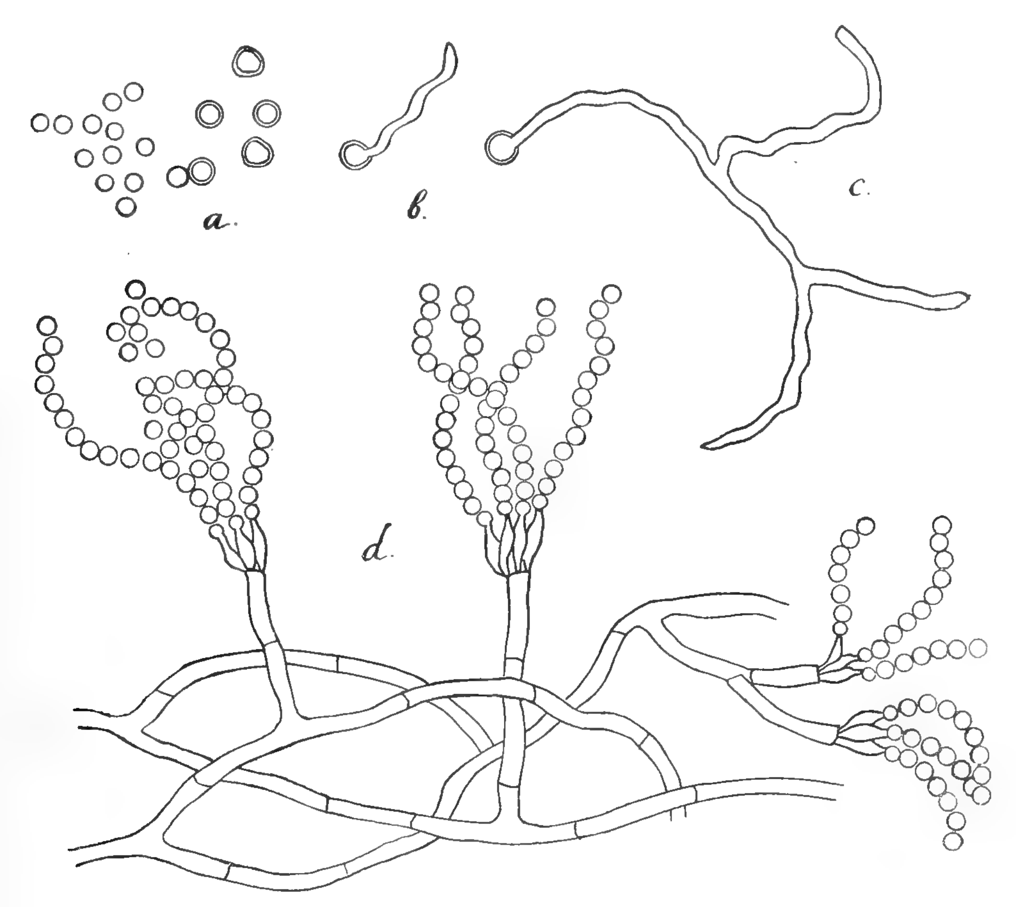


Fig. 1. Cycle de développement du *Penicillium multicolor:* a) conidies, b) et c) germination des conidies et commencement de la formation du mycélium; d) partie du mycélium avec les hyphes conidiennes.

Notre moisissure s'est montrée peu exigeante en ce qui concerne la nourriture, ce qui facilitait beaucoup notre travail. La moisissure se développait bien sur la gélose ordinaire (avec du bouillon de viande et de la peptone), formant un feutre blanc et sur la gélatine, sans liquéfier celle-ci; elle se développait encore mieux sur les mêmes milieux, additionnés de 1% de dextrose ou de 6% de glycérine. Sur la gélose additionnée de sucre il se forme un pigment coloré en rouge, sur la gélose

glycérinée le pigment est coloré en jaune qui passe en orange. La moisissure se développe bien sur des tranches de pomme de terre, de carotte et de betterave, en formant un mycélium blanc. Elle ne coagule pas le lait; à la surface il se forme d'abord un feutre jaune qui devient rouge ensuite. La culture a une odeur faible du moisi. On obtient un développement abondant sur des milieux synthétiques de composition déterminée en présence du sucre ou des alcools supérieurs, des sels nitriques ou d'ammonium, des phosphates etc. Sur des milieux à réaction alcaline la moisissure se développe faiblement, les milieux acides (2 à 3% d'acide lactique) lui conviennent mieux.

Nous avons d'abord limité notre étude au problème des conditions de la formation du pigment. Les premières observations ont déjà montré que la moisissure peut former, suivant la composition du milieu, un pigment tantôt rouge, tantôt jaune de différentes nuances, brun foncé, brun, de couleur de rouge cramoisi, orange, violet. C'est pour cette raison que nous avons nommé notre moisissure *Penicillium multicolor*, en la considérant comme une espèce indépendante.

On a décrit beaucoup de moisissures du genre *Penicillium*[1]), qui produisent des pigments de nuances différentes du rouge au jaune: *Penicillium purpurogenum*, *luteum*, *rubrum*, *pinophilum*, *africanum*, *Duclauxi* etc. Pourtant toutes ces espèces appartiennent au genre *Eupenicillia* et se distinguent par les propriétés de leurs pigments, leurs nuances et leur solubilité de notre moisissure.

La technique de nos expériences a été très simple. Pour obtenir une culture pure nous avons fait une série de passages de notre moisissure par le milieu de la composition suivante:

Eau distillée	1000 cm. c.
Mannite	20 gr.
Phosphate de potassium .	1 „
Sulfate de magnésium . .	1 „
Chlorure de sodium . . .	traces.

Les cultures en boîtes de Petri ont été préparées du même milieu, additionné de 1,7 p. 100 de gélose. On obtenait des colonies rouges caractéristiques de la moisissure et on les repiquait dans des tubes à essais contenant le même milieu ou de la gélose ordinaire. D'autres milieux synthétiques contenant de la gélose ont été aussi employés.

Pour l'ensemencement, on préparait une émulsion en agitant une petite quantité de moisissure dans un volume déterminé d'eau. On prenait toujours avec la même anse de platine une gouttelette de cette

---

1) Cм. Westling *loc. cit.* et Stoll. „Beiträge zur morphologischen und biologischen Charakteristik von Penicilliumarten". Thèse. Würzburg. 1904.

émulsion et on la plaçait au milieu de la plaque. On plaçait les boîtes ensemencées de telle manière dans une étuve à 32° à 35° C. Le lendemain on constatait un rond régulier au centre; le surlendemain on obtenait un pigment de telle ou telle nuance, suivant le milieu, ou bien la moisissure restait blanche.

Il faut signaler que la meilleure température pour le développement de la moisissure est environ 35°C. A 37° le développement est retardé et le pouvoir de former du pigment est atténué sensiblement, comme chez le *Bac. prodigiosus*. A 20° le développement est retardé, mais le pigment se forme de manière normale.

Dans les expériences ultérieures les boîtes de Petri ont été remplacées par des fioles de Kresling, où on versait une couche mince de milieu à gélose et où on déposait la semence au centre. L'emploi de ces fioles a permi d'abaisser considérablement le nombre d'infections accidentelles que l'on observait dans les boîtes de Petri.

On contrôlait les cultures par l'observation microscopique, on notait, autant que possible, tous les jours les observations concernant le développement de la moisissure et l'apparition du pigment.

Nous avons étudié d'abord les conditions du développement de la moisissure et de la formation du pigment, en maintenant la même source de carbone et en variant les sources d'azote. Le milieu suivant fut préparé:

Eau distillée	1000 cm. c.
Dextrose	20 gr.
Phosphate de potassium .	1 „
Sulfate de magnésium . .	1 „
Chlorure de sodium . . .	traces
Gélose	17 gr.

Ce milieu était additionné, à tour de rôle, de combinaisons azotiques suivantes, que l'on prenait en quantité de 0,1 p. 100: phosphate, sulfate ou nitrate d'ammonium, nitrates de potassium ou de sodium, asparagine, peptone, tartarate d'ammonium. Les expériences ont été faites avec des milieux solides, sur lesquels la moisissure se développait plus rapidement et formait aussi rapidement le pigment. Les résultat sont été les suivants:

Milieu contenant un sel d'ammonium (phosphate ou sulfate d'ammonium): développement abondant avec formation d'un pigment d'un jaune de citron (planche fig. 1) qui ne changeait pas sa nuance sur le milieu contenant du sulfate d'ammonium et qui passait en orange ou jaune brun dans le milieu contenant du phosphate d'ammonium, suivant que le milieu contenait de la mannite ou du dextrose. Sur les milieux contenant du nitrate d'ammonium, il se forme d'abord un pigment de jaune de canari, qui restant jaune au milieu devient rouge à l'exté-

rieur ; enfin toute la colonie devient rouge. Le pigment se forme, comme dans les autres cas, dans la partie inférieure du mycélium qui touche directement le milieu, c'est pourquoi il est plus commode de l'observer du fond de la boîte, surtout lorsque la boîte ne contient qu'une couche mince de gélose. Aux vieilles cultures sur des milieux contenant des sels d'ammonium les conidies donnent une nuance verte.

Dans les milieux contenant des nitrates (de potassium ou de sodium), il y avait un développement abondant avec formation du pigment rouge (planche fig. 2) qui passait peu à peu en couleur de rouge cramoisi à nuance brune dans le milieu à dextrose et en rouge de betterave dans le milieu à mannite. Dans le milieu à nitrate de calcium, il y a une différence peu considérable en ce qui concerne les nuances du pigment. Dans tous ces milieux à nitrates, les conidies, donnent aux cultures une nuance de gris-violet.

Dans le milieu contenant 0,1 p. 100 d'asparagine, il se forme aussi le pigment rouge. Ces milieux seront encore traités plus bas.

Milieu contenant de la peptone. Développement abondant. La couleur passe du jaune en rouge et puis en rouge cramoisi. La différence est liée à la présence ou à l'absence du phosphate de potassium.

La variation de la couleur du pigment dans les milieux contenant 1) des sels d'amonium et 2) des nitrates nous a donné des raisons à supposer que ce phénomène est occassionné par le changement de la réaction du milieu: le milieu, où la nutrition azotique se fait aux dépens de l'ammonium, devient acide, tandis que les milieux à nitrates dont la moisissure assimile les éléments acides deviennent alcalins. Dans les expériences avec le nitrate d'ammonium, où la moisissure d'abord jaune devient avec le temps rouge, la moisissure assimile probablement au début l'azote ammoniacal (c'est pourquoi le milieu devient acide et se colore en jaune), puis à mesure que l'ammonique disparait, elle assimile l'azote de l'acide nitrique (c'est pourquoi le milieu devient alcalin et se colore en rouge). Toutes ces suppositions ont été complétement confirmées d'abord par des essais de la réaction du milieu (on prenait pour ces essais des morceaux de gélose à la proximité immédiate du mycélium) ; les milieux de culture de la moisissure ont été aussi additionnées de tournesol et dans ce cas le milieu à nitrate, dans lequel se développe le mycélium rouge, devenait bleu et le milieu à sel d'ammonium, dans lequel se développe le mycélium jaune devenait rouge. On obtient aussi des résultats rapides et démonstratifs à ce point de vue en versant du tournesol sur les colonies géantes de la moisissure sur des milieux différents.

Le fait que la moisissure produit un pigment jouant le rôle d'indicateur de la réaction est prouvé aussi par la transformation de la couleur du pigment sous l'action d'acides ou d'alcalis: en versant de l'acide

sur le mycélium rouge qui s'est développé dans un milieu alcalin, on obtient une coloration jaune et en versant de l'alcali sur le mycélium jaune on obtient une coloration rouge. Un organisme à un tel pouvoir exclusif de produire un pigment-indicateur présente un objet commode pour des expériences concernant la physiologie de la nutrition: en se guidant sur le changement de la couleur de la moisissure, on peut poursuivre les changements de la réaction du milieu et, par conséquent, la consommation de telles ou telles substances nutritives mettant en liberté des produits acides ou alcalis. Le pigment en solution garde aussi ses propriétés d'indicateur.

Les résultats cités plus haut concernant la formation du pigment sur les milieux contenant des nitrates et des sels d'ammonium nous ont conduit à des conclusions pas tout à fait correctes. Nous avons supposé que la cause du changement de la couleur consistait, d'un côté, dans la mise en liberté d'acide par le sel d'ammonium et, d'autre côté, d'alcali par le nitrate. Si la première partie de la conclusion ne contredit par les faits, sa deuxième partie n'est pas tout à fait exacte.

Les expériences de contrôle ont montré que le pigment rouge se forme aussi à l'absence du nitrate, évidemment sous l'influence des produits de décomposition du phosphate de potassium, tandis que, au cas d'absence de ce sel et en présence du nitrate, il y a un développement relativement faible et un pigment de couleur jaune de citron. Si l'on ajoute de l'alcali la couleur jaune passe en rouge.

Les expériences ont été faites dans le milieu suivant:

Eau distillée	1000 cm. c.
Mannite	20 gr.
Phosphate de potassium . .	1 „
Nitrate de potassium . .	1 „
Phosphate de magnésium	1 „
Chlorure de sodium . . .	traces
Gélose	17 gr.

Dans ce milieu, la moisissure produisait déjà au troisième jour un beau pigment rouge. En éliminant de ce milieu les parties composantes isolée, nous avons obtenu les résultats suivants:

1) L'élimination du sulfate de magnesium n'a aucune influence sur le développement de la moisissure et la formation du pigment.

2) L'élimination du nitrate n'a pas eu non plus d'influence sensible sur la formation du pigment. Au cours des premières 1 à 2 semaines, l'absence du nitrate n'a pas eu d'influence retardatrice en ce qui concerne le développement de la moisissure, mais quelque temps après le développement de la moisissure a été plus abondant sur les milieux contenant nitrates que sur les milieux sans nitrates.

3) A l'absence de la matiére organique (mannite), le développment est faible, le mycélicum est tout à fait blanc.

4) A l'absence du phosphate de potassium le développement est faible, le mycélium a une couleur jaune-verdâtre; la moisissure couvre une grande surface et donne un mycélium pauvre. Si l'on verse de l'alcali, il devient instantanément rouge; si l'on verse du phosphate de potassium, il devient rouge peu à peu.

Pour établir le minimum de phosphate de potassium nécessaire pour la formation du pigment rouge, nous avons ajouté au milieu cité plus haut les concentrations suivantes de phosphate de potassium: 0,05, 0,1, 0,2, 0,5, 1 et 5 p. 100. A la teneur en phosphate de potassium de 0,05 p. 100, le pigment rouge se forme, mais la moisissure se développe faiblement. Le développement et la formation du pigment sont meilleurs dans les milieux qui contiennent 0,1 et 0,5 p. 100 de phosphate de potassium. Le milieu à 1% de phosphate de potassium donne une moisissure blanche; dans le milieu à 5 p. 100 de phosphate de potassium il n'y avait pas du tout de développement.

On a pris aussi d'autres phosphates. Les phosphates de sodium et de calcium ont eu la même influence sur le développement et sur le pigment, il n'y avait que cette différence que le milieu à phosphate de calcium a donné une nuance légerement orange.

Les résultats avec les milieux à phosphate de potassium étaient tout autres, lorsqu'on prenait comme source carbone de l'asparagine ou du tartrate d'ammonium.

Les milieux suivants ont été préparés:

1)	Eau distillée	1000 cm. c.
	Asparagine	20 gr.
	Phosphate de potassium . .	1 „
	Chlorure de sodium	traces.
	Gélose	17 gr.
2)	Eau distillée	1000 cm. c.
	Tartrate d'ammonium . . .	20 gr.
	Phosphate de potassium . .	1 „
	Chlorure de sodium	traces.
	Gélose	17 gr.

Sur ces milieux la moisissure était tout à fait blanche. Le développement était complétement normal. Si l'on versait de l'alcali, le mycélium ne devenait pas rouge. Ce milieu additionné de 0,05 p. 100 d'alcali donnait aussi une moisissure blanche. Sur ce milieu privé de phosphate de potassium, la moisissure devenait rouge et formait des ronds concentriques (planche, fig. 6).

Pour obtenir un développement plus abondant, nous ajoutâmes à ces milieux 0,1 p. 100 de mannite ou 0,1 p. 100 de nitrate d'ammonium ou 0,1 p. 100 de nitrate de potassium. Le développement devenait plus abondant, mais le caractére du phénomène lié à la présence ou à l'absence du phosphate de potassium restait le même. Les ronds concentriques étaient particuliérement distincts sur le milieu additionné de 0,1 p. 100 de nitrate d'ammonium. Des nombreuses expériences ont donné toujours les mêmes résultats.

Le phénomène de la formation des ronds concentriques est très répandu chez les moisissures et est connu sous le nom des „ronds de sorciére". Il existe différentes manière d'expliquer ce phénomène. On l'explique, par exemple, par les changements liés à la suite du jour et de la nuit, qui consistent dans ce que l'obscurité remplace périodiquement la lumière[1]). On a décrit en effet des cas, où la formation des ronds concentriques cessait au cas où la culture se faisait à l'obscurité absolue. Sans nier le rôle de ce facteur, nous ne pouvons pas lui attribuer une importance décisive, notre moisissure cultivée dans les mêmes conditions au point de vue de la lumière n'ayant pas donné dans les expériences avec d'autres milieux de ronds aussi bien prononcés. Sur le milieu à asparagine sans phosphate de potassium les ronds se forment même au cas, où l'on cultive la moisissure à l'obscurité absolue. C'est pourquoi il est plus juste de se rallier à l'opinion, suivant laquelle la composition du milieu peut jouer aussi un rôle dans ce phénomène singulier. Lorsque les colonies géantes se développent sur certains milieux solides, dans notre cas sur les milieux à asparagine et à tartrate d'ammonium, les produits de dissimilation toxiques qui sont sécretés se répandent dans le milieu de manière centrifuge et forment une zone empoisonnée autour de la colonie; en la rencontrant, le mycèlium donne un développement faible, mais lorsqu'il a passé cette zone, il se fixe de nouveau sur milieu et commence à se nourrir de manière normale; il y a ainsi une nouvelle éclosion de développement, un rond de développement abondant et comme résultat une nouvelle zone empoisonnée à la périphérie et ainsi de suite.

En présence du phosphate de potassium sur le même milieu, le mycélium n'est pas coloré. Il n'est pas encore clair en quoi consiste cette influence.

Pour constater comment se comporte la moisissure dans un milieu qui contient en même temps de l'asparagine et du mannite dans des concentrations différentes, si l'on obtient dans ce cas des ronds con-

1) Knischevsky. Tagesringe bei *Penicillium luteum*. *Landw. Jahrb.*, t. 38, p. 341, 1909.

centriques ou le caractère du développement subit des changements, nous avons préparé des milieux avec ou sans phosphate de potassium. Le milieu suivant nous a servi de base :

Eau distillée	1000 cm. c.
Mannite	20 gr.
Nitrate de potassium . .	1 „
Chlorure de sodium . . .	traces.
Gélose	17 gr.

Dans ce milieu additionné de 0,1 à 0,5 p. 100 d'asparagine et de 0,1 p. 100 de phosphate de potassium, on obtenait une moisissure rouge sans ronds. Il faut supposer que dans ce cas en présence d'une teneur peu considérable en asparagine et d'une teneur élevée en mannite, la moisissure se servait de la mannite comme source de carbone, ce qui déterminait le caractère du développement. Au contraire, à une teneur relativement élevée en asparagine (2%) et à une teneur peu considérable en mannite (0,1 p. 100) en présence de 0,1 p. 100 de phosphate de potassium, la moisissure se nourrit de l'asparagine et ne produit pas de pigment.

Lorsqu'on cultivait la moisissure sur ces milieux sans phosphate de potassium, on constatait des ronds concentriques. Dans des milieux contenant une grande quantité d'asparagine et de mannite, malgré l'absence du phosphate de potassium, la formation du pigment est retardée; d'abord apparait un pigment de couleur de jaune de citron et ce n'est qu'un temps considérable après que se dessinent des ronds, probablement lorsque toute la mannite qui se trouve dans le milieu est consommée.

Dans des milieux contenant 1% d'asparagine, 0,1% de phosphate de potassium et 1% de dextrose ou de glycérine, il se forme un pigment brun foncé.

Outre la mannite, l'asparagine et le tartrate d'ammonium qui ont donné des résultats si différents en connexion avec la présence ou l'absence du phosphate de potasssium, d'autres sources de carbone ont été essayées. Les alcools plurivalents et les matières hydrocarbonées ont donné les meilleurs résultats. En ce qui concerne surtout la mannite les meilleures concentrations ont été de 1 à 2%. A une teneur en mannite de 0,05 p. 100 le mycélium avait une couleur faible de rose. A une teneur en mannite de 10%, le pigment apparaissait avec un retard considérable.

Dans le milieu liquide contenant 1% d'acétate de calcium, 0,1 p. 100 de nitrate de potassium, 0,1 p. 100 de phosphate de potassium et 0,05 p. 100 de sulfate de magnésium, le pigment rouge se formait bien et passait peu à peu en solution.

Sur le milieu contenant du dextrose ou de la glycérine, en présence de 0,1 p. 100 de phosphate de potassium et de 0,1 p. 100 de nitrate de potassium ou sans nitrate, le pigment se formait bien, mais sur le dextrose il prenait avec le temps une nuance de brun foncé. Si l'on privait le milieu de phosphate de potassium, on observait les mêmes phénomènes que sur le milieu à base de mannite privé de ce sel.

Sur le milieu contenant 2% de lécithine, 0,1 p. 100 de nitrate de potassium et des traces de chlorure de sodium avec ou sans phosphate de potassium, le pigment ne se formait pas, il se développait une moisissure blanche.

Sur le même milieu contenant encore 2% de mannite et privé de phosphate de potassium, il se forme une colonie bicolore: jaune à l'extérieur, rouge à l'intérieur; si ce milieu contient 0,1 p. 100 de mannite, le mycélium a une nuance de rouge foncé qui passe en brun foncé.

On observait aussi la formation d'une colonie géante bicolore sur plusieurs autres milieux. Ainsi si notre moisissure est cultivée sur le milieu:

Eau distillée	1000 cm. c.
Dextrose	20 gr.
Phosphate de potassium . . .	1 „
Nitrate d'ammonium	1 „
Sulfate de magnésium } Chlorure de sodium } . . .	traces.
Gélose	17 gr.

alors au centre de la boîte de Petri, de l'endroit ou on a posé la semence, il se développe une colonie jaune qui est bordée à la périphérie d'un anneau rouge (planche, fig. 4); avec le temps toute la colonie devient rouge.

Une colonie semblable se développe sur le milieu:

Eau distillée	1000 cm. c.
Dextrose	10 gr.
Asparagine	10 „
Sulfate de magnésium } Chlorure de sodium }	traces.
Gélose	15 gr.

sur le milieu à base de mannite contenant des quantités égales de phosphate d'ammonium et de nitrate de potassium, et aussi sur le milieu:

Eau distillée	1000 cm. c.
Mannite	10 gr.
Peptone	2 „
Sulfate de magnésium . . .	0,5 „
Gélose	15 „

Une succession inverse des couleurs dans la colonie géante c. a. d. un mycélium rouge à l'intérieur et un mycélium jaune à la périphèrie (pl., fig. 3) est observée sur le milieu:

Eau distillée	1000 cm. c.
Dextrose	20 gr.
Asparagine	0,5 „
Nitrate d'ammonium	0,5 „
Phosphate de potassium	1 „
Chlorure de sodium	traces
Gélose	17 gr.

et sur le milieu:

Eau distillée	1000 cm. c.
Lécithine	20 gr.
Mannite	10 „
Chlorure de sodium	traces
Gélose	17 gr.

Le fait que les colonies sont bicolores peut être expliqué par ceci que sous l'influence de la nutrition de la moisissure se forment d'abord des produits acides ou alcalins et ensuite, lorsque la moisissure commence à se nourrir d'autres matières qui donnent des produits de dissimilation à une réaction opposée, la couleur du mycélium à la périphèrie change. Avec le temps le rond jaune au milieu devient rouge et toute la colonie est alors colorée de la même couleur; parfois la colonie bicolore ne se forme pas tout d'un coup et garde les deux couleurs assez longtemps.

Il était intéressant d'élucider, comment la moisissure se comporte vis à vis des substances minérales différentes, de déterminer les quantités de substances minérales dont elle a besoin. Nous avons déjà vu qu'elle se développe dans un milieu contenant des combinaisons organiques (mannite, dextrose etc.) avec 0,1 p. 100 de phosphate de potassium sans nitrate, mais dans ce cas avec le temps le développement est retardé par rapport aux milieux contenant des nitrates. Dans des concentrations de nitrates plus élevées (5 à 10%), le développement et la formation du pigment sont d'abord légérement retardés, mais ensuite toute différence disparaît et le pigment est, au point de vue de ses qualités, sur ces milieux le même que sur les milieux contenant 0,05 à 2% de nitrates, sur lesquels la moisissure se développe et forme le pigment plus tôt. Le développement de la moisissure est le même sur des milieux avec ou sans sulfate de magnésium. Nous devons ajouter que les substances chimiques (avec l'étiquette „purissimum") n'ont pas été purifiées au laboratoire; c'est pourquoi il faut compter avec la possibilité de la présence des traces d'autres élements chimiques dans les substances chimiques employées, ainsi que dans l'eau distillée dont nous nous sommes servis,

Le pigment produit par la moisissure n'est pas soluble dans l'eau, l'éther, le chloroforme, le benzol, la benzine, le xylol, l'aniline, le bisulfure de carbone, l'alcool amylique, la glycérine et dans une solution de carbonate de sodium à 5%.

Le pigment est faiblement soluble dans l'alcool méthylique et éthylique (à peine dans l'alcool propylique), dans l'acétone, dans une solution de potasse caustique à 1%, dans une solution de pepsine et de trypsine. Dans de vieilles cultures on observe parfois le passage du pigment en solution, évidemment sous l'influence des produits alcalins ou acides qui s'accumulent.

Le pigment est bien soluble dans des solutions d'acides minéraux et de l'acide acétique concentré. Le dernier acide est le meilleur dissolvant. Le pigment passe en solution avec une couleur jaune. A l'addition d'alcali la coloration jaune passe en rouge. Le pigment sert ainsi aussi d'indicateur in vitro.

Par ses propriétés et par sa couleur le pigment de notre moisissure se rapproche du pigment de *Fusarium Heidelbergianum* décrit par Seliber[1]) et qui vire aussi du rouge ou jaune sous l'influence d'acides et du jaune au rouge sous l'influence d'alcalis. De même que *Penicillium multicolor*, ce *Fusarium* forme un mycélium jaune dans des milieux à sulfate d'ammonium et un mycélium rouge dans des milieux à nitrate de potassium. Comme Seliber nous le communique personnellement, suivant les essais préalables, le pigment de *Fusarium* se comporte vis à vis de certains dissolvants a peu près, comme le pigment de notre *Penicillium*. Nous sommes ainsi, à ce qu'il parait, devant le fait curieux de la production d'un même pigment par deux organismes différents.

Il nous reste encore à dire quelques mots en ce qui concerne les conditions dans lesquelles la moisissure se développe sans former de pigment. Il faut avant tout faire remarquer que les conditions pathologiques, au point de vue du développement, favorisent la disparition du pouvoir de produire le pigment. Nous avons eu l'occasion d'observer beaucoup de fois que l'arrêt définitif du développement sous l'influence de la concentration croissante d'une partie composante quelconque du milieu ou de l'élimination graduelle des substances nutritives nécessaire ou sous l'influence de l'affluence gênée de l'oxygène, d'une trop haute température etc. est précédée de la disparition du pouvoir d'élaborer le pigment.

Le résultat de ces observations ne peut pourtant être géneralisé: sur certains des milieux essayés nous avons observé un développement

---

1) Seliber. „Sur le virage du pigment de deux Champignons". *Comptes rend. de l'Ac.* t. 150, p. 1707, 1910.

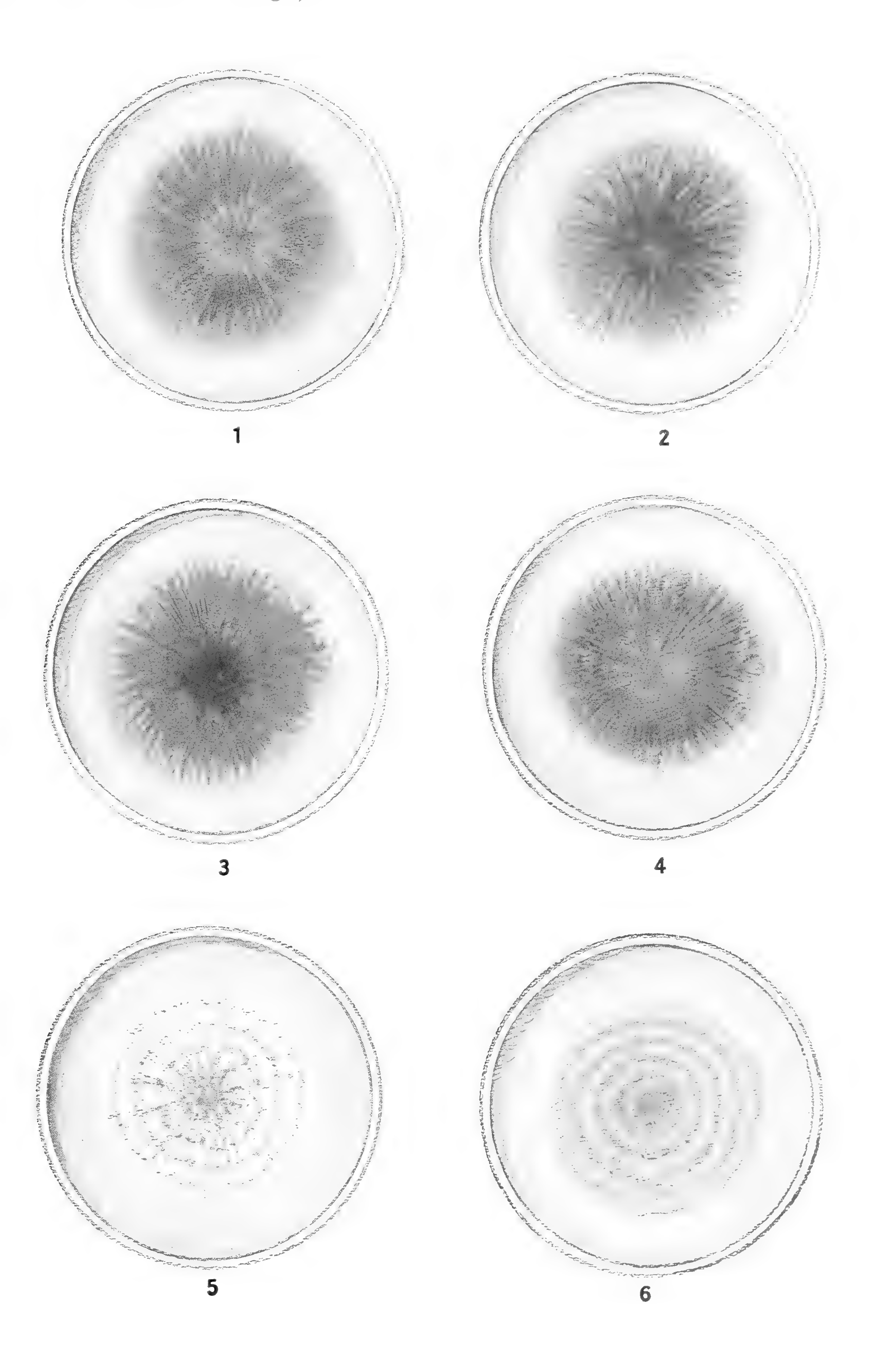
tout à fait normal avec un mycélium sans pigment. Il faut ajouter que par mycélium sans pigment (incolore) nous entendons un mycélium qui ne devient pas rouge après l'addition d'alcalis et jaune après l'addition d'acides.

Nous avons observé une moisissure normale sans pigment (pl., fig. 5) sur les milieux suivants:

1) Eau distillée	1000 cm. c.
Asparagine	20 gr.
Phosphate de potassium .	1 „
Chlorure de sodium . . .	traces
Gélose	17 gr.
2) Eau distillée	1000 cm. c.
Tartrate d'ammonium . .	20 gr.
Phosphate de potassium .	1 „
Chlorure de sodium . . .	traces
Gélose	17 gr.
3) Eau distillée	1000 cm. c.
Lécithine	20 gr.
Chlorure de sodium . . .	traces
Gélose	17 gr.

Les deux premiers milieux additionnés de 0,1 p. 100 de mannite ont donné les mêmes résultats. En comparant le premier milieu avec un milieu analogue, où nous avons obtenu des ronds concentriques, nous voyons que les deux milieux ne diffèrent que par la présence de 0,1 p. 100 de phosphate de potassium. Et ce changement peu considérable est suffisant pour faire disparaître le pigment rouge et les ronds concentriques. — On obtenait un mycélium blanc semblable sur la gélose ordinaire (avec peptone et bouillon de viande) sans sucre, mais dans ce cas sur des vieilles cultures apparaissait d'abord le pigment jaune qui prenait ensuite une nuance de rouge brun. Sur les milieux à asparagine le mycélium blanc restait pendant des mois sans changements. Si on répique cette moisissure blanche sur un milieu où le pigment se forme, elle le produit de nouveau. Sur la pomme de terre et la carotte la moisissure ne produit pas de pigment.

En passant en revue les données citées dans le présent travail, nous voyons que la moisissure isolée par nous est un organisme trés curieux qui réagit d'une manière très délicate aux plus petits changements dans la composition du milieu nutritif par le changement de la couleur du pigment q'il produit. Cet organisme si singulier dans les manifestations de sa fonction chromogène, est en même temps tellement docile dans l'expérience, qu'il ressemble à un réactif mort. Dans des milieux de composition différente, nous avons obtenu des cultures colorées en brun



Клише и печать „Унионъ" ПТГ. Б. Казачий пер. 11

foncé, violet, rouge, rose, orange et jaune. Sur certains milieux la moisissure reste blanche. Nous avons réussi enfin à obtenir des cultures sous forme des ronds concentriques. L'intérêt de ce jeu singulier de la formation du pigment consiste non seulement dans la beauté extérieure du phénomène, mais aussi en ceci que le pigment élaboré par la moisissure sert d'indicateur chimique très démonstratif qui caractérise le mécanisme de la nutrition de la moisissure et montre ses préferences en ce qui concerne telle ou telle matière nutritive. La couleur du pigment n'est que la réflexion externe des processus internes de nutrition qui ont lieu dans les cellules vivantes de cet organisme et peut, comme il nous semble, servir dans l'enseignement pour des démonstrations ayant pour but de montrer la production physiologique d'acides et d'alcalis.

Le lien qui existe entre la production du pigment et la composition du milieu et les autres conditions de culture montre combien on doit être prudent, lorsqu'on veut se servir de caractéres extérieurs des cultures des microbles et, en particulier, de la couleur du pigment pour leur différenciation.

Nous ne considérons pas nos recherches comme terminées, nous espérons les continuer.

En terminant il nous est un devoir agréable de remercier M. V. Omeliansky de toutes les indications qu'il nous a données au cours de ces recherches et de l'intérêt continuel qu'il a témoigné pour notre travail.

Explication des figures.

Fig. 1. Culture de la moisissure sur un milieu contenant 2% de mannite, 0,1 p. 100 de phosphate de potassium et 0,1 p. 100 de sulfate d'ammonium.

Fig. 2. Culture de la moisissure sur un milieu contenant 2% de mannite, 0,1 p. 100 de phosphate de potassium et 0,1 p. 100 de nitrate de potassium.

Fig. 3. Culture de la moisissure sur un milieu contenant 2% de dextrose, 0,05 p. 100 d'asparagine, 0,05 p. 100 de nitrate d'ammonium et 0,1 p. 100 de phosphate de potassium.

Fig. 4. Culture de la moisissure sur un milieu contenant 2% de dextrose, 0,1 p. 100 de phosphate de potassium et 0,1 p. 100 de nitrate d'ammonium.

Fig. 5. Culture de la moisissure sur un milieu contenant 2% d'asparagine, 0,1 p. 100 de phosphate de potassium et 0,1 p. 100 de nitrate de potassium.

Fig. 6. Culture de la moisissure sur un milieu contenant 2% d'asparagine et 0,1 p. 100 de nitrate de potassium.



Les vaccinations antirabiques à Petrograd.

Rapport annuel du Service Antirabique de l'Institut Impérial de Médecine Expérimentale pour l'année 1914.

V. Ouchakoff.

(Chef de Service — W. A. Kraïouchkine).

Pendant l'année 1914, 2591 personnes s'adressèrent au Service Antirabique de l'Institut pour être soignées.

Par différentes raisons, 711 personnes ne furent pas soumises au traitement, à savoir:

381 mordues par d'animaux pas enragés comme résulta de la mise en observation de ceux-ci;
77 à cause l'intégrité des habits à l'endroit de la morsure;
97 à cause d'absence de lésions a la région mordue;
156 l'ayant refusé;

711

Les personnes traitées furent 1880; dont 522 ne sont pas comptés dans la statistique, soit:

403, seulement léchées et pas mordues par d'animaux enragés.
38, mordues par d'animaux pas enragés;
74, qui interrompirent le traitement[1]);
7, par peur d'avoir été infectées, quoique il n'y avait point de données en faveur de cela.

522

1) Une d'entre elles fut atteinte par la rage; E. E., 55 ans, mordue l' 8 juin 1914 par un chien inconnu (IIIme catég.) à l'avant-bras droit à nu (7 morsures pénétrantes). Elle ne reçut qu'une seule injection le 10 juin et ne se présenta plus au Service. Tomba malade d'hydrophobie le 26 juillet. Incubation 48 jours (№ 23504).

722 pendant le traitement furent logées au Service.

La statistique comprend 1358 personnes, qui réparties par mois se partagent ainsi:

en janvier	170	personnes
„ février	108	„
„ mars	127	„
„ avril	108	„
„ mai	179	„
„ juin	162	„
„ juillet	124	„
„ août	107	„
„ septembre	72	„
„ octobre	64	„
„ novembre	70	„
„ décembre	67	„
	1358	personnes

et par gouvernement ainsi:

De Petrograd (ville) 304 / Du gouvern. de Petrograd 250	554	personnes
„ „ „ Pskov	252	„
„ „ „ Novgorod	189	„
„ „ „ Livlande	84	„
„ „ „ Kourlande	49	„
„ „ „ Olonetz	67	„
„ „ „ Vitebsk	21	„
„ „ „ Tver	10	„
„ „ „ Kovno	13	„
„ „ „ Vilno	1	„
„ „ „ Viatka	1	„
„ „ „ Minsk	2	„
„ „ „ Tauride	1	„
„ „ „ Jaroslavle	10	„
„ „ „ Estlande	10	„
„ „ „ Vologda	7	„
„ „ „ Kostroma	1	„
„ „ „ Moguilev	1	„
De la region de Terek	1	„
Du gouvern. de Perm	2	„
„ „ „ Moscou	1	„
„ „ „ Volhynie	1	„
„ „ „ Astracan	1	„
„ „ „ Radom	1	„
„ „ „ Kazan	1	„
De la Finlande	70	„
„ „ Galicie	1	„
	1358	personnes.

Des personnes traitées, 304 appartiennent à la ville de Petrograd, soit près du 21 p. 100.

D'après leur âge et l'espèce d'animal mordeur, les traités se répartissent ainsi:

	I catégorie.		II catégorie.		III catégorie.		En tout.	
	Traités.	Morts.	Traités.	Morts.	Traités.	Morts.	Traités.	Morts.
Age:								
0— 5 ans	38	—	28	—	50	—	111	—
5—10 „	63	—	70	—	116	2	249	2
10—15 „	47	—	57	—	97	—	201	—
15—25 „	82	1	65	1	135	—	282	2
25—35 „	59	—	60	—	96	1	215	1
35—45 „	47	1	45	1	54	—	146	2
45—55 „	24	1	20	—	48	—	92	1
55—65 „	14	—	19	—	15	—	48	—
au-delà de 65 „	5	—	7	—	2	—	14	—
En tout	374	3	371	2	613	3	1358	8
Sur ce nombre — femmes	177	—	151	1	229	1	557	2
Animaux mordeurs:								
chien	340	3	308	2	561	3	1209	8
chat	24	—	50	—	39	—	113	—
cheval	2	—	7	—	7	—	16	—
vache	—	—	5	—	2	—	7	—
cochon	1	—	1	—	—	—	2	—
brebis	1	—	—	—	2	—	3	—
rat	2	—	—	—	1	—	3	—
homme	4	—	—	—	1	—	5	—

Remarque. Dans la I catégorie sont compris les cas où la rage de l'animal mordeur a été constatée expérimentalement. Dans la II catégorie les cas où la rage a étè constatée par la nécroscopie ou l'examen vétérinaire. Dans la III catégorie les cas où l'animal est seulement suspect.

Selon la place de la morsure et le dégré de celle-ci, les mordus se repartissent ainsi:

Siège des morsures.	Nombre des morsures et état des vêtements.	I catégorie. Traités.	I catégorie. Morts.	II catégorie. Traités.	II catégorie. Morts.	III catégorie. Traités.	III catégorie. Morts.	Total. Traités.	Total. Morts.
A la tête ou à la figure	Uniques	17	—	12	—	16	—	45	—
	Multiples	16	—	18	—	31	—	65	—
A la main	A nu uniques . .	90	—	73	—	96	—	259	—
	A nu multiples .	117	3	101	2	153	2	371	7
	A travers les vêtem.	13	—	16	—	23	—	52	—
Au bras et avantbras	A nu uniques . .	27	—	12	—	13	—	52	—
	A nu multiples .	17	—	23	—	24	—	64	—
	A travers les vêtem.	27	—	28	—	69	—	118	—
Aux membres inférieurs	A nu uniques . .	7	—	11	—	14	—	32	—
	A nu multiples .	7	—	14	—	20	—	41	—
	A travers les vêtem.	40	—	54	—	147	1	241	1
Au tronc	A nu	—	—	—	—	—	—	—	—
	A travers les vêtem.	2	—	9	—	7	—	18	—
	Total.	374	3	371	2	613	3	1358	8
Morsures uniques		176	—	161	—	235	—	572	—
„ multiples		198	3	210	2	378	3	786	8
„ à nu		298	3	264	2	367	2	929	7
„ à travers les vêtements . . .		76	—	107	—	246	1	429	1
Sans cautérisation des plaies		291	2	322	2	494	2	1107	6
Avec „ „ „		83	1	49	—	119	1	251	2
Se sont présentées au Service:									
la 1re semaine après la morsure .		298	3	267	2	438	3	1003	8
„ 2me „ „ „ „ .		41	—	79	—	116	—	236	—
„ 3me „ „ „ „ .		18	—	14	—	32	—	64	—
„ 4me „ „ „ „ .		10	—	7	—	10	—	27	—
plus tard		7	—	4	—	17	—	28	—

Des traités furent atteints par la rage 8 personnes, soit 0,6 %; déduisant 3 morts pendant les 30 jours après la morsure; la mortalité est de 0,38 p, 100.

	I catégorie.	II catégorie.	III catégorie.	Total.
Morts pendant les 30 jours consécutifs au commencement du traitement. .	1	—	2	3
Morts plus de 30 jours après le traitement	2	2	1	5
Total . . .	3	2	3	8

1) A. B., 42 ans, paysan, mordu par un chien déclaré enragé par le vétérinaire le 28 janvier à la main droite à nu (2 déchirures profondes), fut traité du 1 février au 26 février 1914. Le 13 avril fut amené au Service en plein état d'hydro- et aërophobie. Incubation 74 jours (II catég. № 22733).

2) I. A., 10 ans, paysan, mordu le 22 mai par un chien inconnu à la main droite (3 morsures pénétrantes et 1 déchirure), commença le traitement le 6 juin; mais après 10 jours, le 16 se déclara déjà la rage par des symptomes d'hydrophobie. Mort le 18 juin. Incubation 26 jours (IIIme catég. № 23476).

3) M. S., 45 ans, directeur d'une fabrique, mordu par un chien enragé le 21 juin 1914 à la main à nu (2 morsures profondes déchirées au III doigt), fut traité du 22 juin au 13 juillet. Le 1 août douleurs au doigt mordu; le 5 tableau complet de la rage. Incubation 40 jours (Ier catég. № 23582).

4) P. S. 19 ans, bourgeoise, mordue par un chien déclaré enragé par le vétérinaire le 24 et le 26 juillet à la main et à la jambe à nu (4 morsures profondes à la main gauche, 1 morsure au pied droit), fut traitée du 31 juillet au 20 août 1914. Le 24 octobre douleurs dans la main. Le 29 octobre mort. Incubation 92 jours (II catég. № 23803).

5) T. V., 8 ans fille d'un prêtre, mordue par un chien inconnu le 28 août au mollet droit à travers les vêtements (plus de 10 petites plaies profondes), fut traitée du 1 au 21 septembre. Le 3 octobre douleurs à l'endroit de la morsure, insomnie. Le 6 octobre faiblesse dans la jambe droite. Le 7 aëro- et hydrophobie. Incubation 36 jours (IIIme catég. № 23953).

6) A. L., 25 ans maître d'école, mordu le 29 novembre par un chien enragé à la région de l'articulation de la main droite (2 morsures pénétrantes profondes et l'écorchure) fut traité du 1 au 21 décembre 1914. Le 16 janvier 1915 douleurs à la main mordue. Du 18 au 26 janvier rage paralytique. Incubation 48 jours (Ier catég. № 24288). L'examen microscopique de la corne d'Ammon démontra des nombreux corpuscules de Negri.

7) J. P., 39 ans, paysan, mordu par le même chien que le № précédent à la main à nu (6 morsures profondes á l'articulation de la main), fut traité du 5 au 25 décembre. Tomba malade de rage le 1 janvier 1915 (forme paralytique) et mourut le 10. Incubation 32 jours (Ier catég. № 24311).

8) M. S., 32 ans, paysan, mordu le 20 décembre par un chien inconnu à la main à nu (2 morsures déchirées profondes et des plaies pénétrantes), le 22 décembre commença le traitement qui fut bientôt suspendu le 24 à cause d'une pneumonie grippale survenue. Le traitement fut repris le 3 janvier 1915 et continué jusqu'au 20 janvier. Le Ier février 1915 hydrophobie. Incubation 42 jours (IIIme catég. № 24365).

126 chiens furent mené au service afin d'être immunisés contre la

rage par des injections préventives. 14 périrent: 7 par le virus fixe, 5 par la rage des rues et 2 par des causes accidentelles.

1243 animaux suspects soit vifs que morts furent envoyés au service, soit:

	A l'observation résultèrent:		L'observation demeura sans résultat.	En tout.
	enragés.	pas enragés.		
De la ville de Petrograd:				
chiens	289	763	46	1098
chats	17	33	16	66
cheval	- -	1	—	1
Total	306	797	62	1165
De la province:				
chiens	35	40	1	76
chats	1	—	—	1
rat	1	—	—	1
Total	37	40	1	78

Le pourcent relativement faible des animaux enragés sur le total des animaux mis en observation provient de cela, que la police envoit au service non seulement les animaux suspects, mais tout animal qui a mordu quelqu'un.

Furent encore envoyés au service 178 cerveaux de différents animaux; 68 se trouvèrent en assez mauvais état pour être examinés, 110 renfermaient le virus rabique; les autres appartenaient à des animaux non enragés[1]).

Afin de poser le diagnostic de la rage, on pratiqua 413 nécroscopies, et dans 257 cas fut possible établir la diagnose par les seules données de l'autopsie. Dans le même but on pratiqua 323 examens histologiques, avec 211 cas positifs (présence des corpuscules de Negri). Enfin dans 146 cas on pratiqua la preuve expérimentale sur des lapins, avec un résultat de 118 cas positifs.

Dans 50 cas, où l'examen microscopique avait reussi négatif, la preuve expérimentale sur les lapins reussit positive; il faut pourtant faire remarquer que dans 40 cas s'agissait d'animaux tués.

Le virus fixe de Petrograd a une incubation de 5 jours, comptant

1) La statistique des animaux suspects a été dressée par le Dr. R. Pirone.

comme signe de la rage déclarée le début des symptômes paralytiques; les lapins meurent 7—8 jours après l'inoculation.

La formule du traitement suivie durant l'année est la suivante:

dans les cas légers:	4 jours,	4 jours,	3 jours,			à la dose d'1—$1^{1}/_{2}$ cc.
	4 „	3 „	3 „			
	3 „	3 „	3 „			
	3 „	3 „	2 „			
	3 „	3 „	3 „			
dans les cas moyens:	4 jours,	4 jours,	3 jours,	3 jours,	2 jours	à la dose d'$1^{1}/_{2}$—$2^{1}/_{2}$ cc.
	4 „	3 „	3 „	2 „		
	3 „	3 „	3 „	2 „		
	3 „	2 „	2 „	3 „		
	2 „	2 „	2 „	2 „		
dans les cas graves:	4 jours,	3 jours,	3 jours,	2 jours,	3 jours	à la dose de 2—4 cc.
	4 „	3 „	3 „	2 „	2 „	
	3 „	3 „	3 „	2 „		
	3 „	2 „	2 „	3 „		
	2 „	2 „	2 „	2 „		
	2 „	— „	— „	— „		

On pratiquait toujours une seule injection par jour; l'émulsion était preparée en raison de 1 mm. de moelle par 1 cc. d'eau physiologique. Vers la fin de l'année parmi les traités se verifiérent trois cas d'accidents nerveux sous forme de paralysies et de parésies. Les cas fairont l'objet d'une publication à part, ici nous les résumons brievement:

1) M. N., 17 ans, mordue le 25 septembre par un chat enragé (Ire catég.) à l'avant-bras droit (2 morsures profondes), fut traitée du 26 septembre au 15 octobre. Le 13 octobre accusa des douleures très fortes à l'endroit mordu, le jours suivants peu à peu s'établit une parésie de la main et de la jambe droites. La parésie améliora bientôt et à la fin de novembre la malade était guerie.

2) P. J., 29 ans, mordu par un chien enragé (1re catég.) à la main droite le 2 novembre (2 morsures profondes ou doigt), fut traité du 4 au 22 novembre. Le 21 novembre, douleurs aux épaules; le 22 sensation de lourdeur aux membres inférieurs; le 23 difficulté dans l'urination qui dura 2 jours. Les symptômes rapidement s'améliorèrent et les premiers jours de décembre le malade était gueri.

3) E. B., 40 ans, pas de morsure, mais une contusion de l'avant-bras gauche produite par les dentes de l'animal, ni plaie ni solution de continuité des teguments. Fut traitée du 23 novembre au 7 décembre. Le soir de ce même jour douleur aux arts inférieurs, ensuite faiblesse et paraplegie avec rétention de l'urine. Les symptômes nerveux durèrent jusqu'à la fin de janvier 1915 puis peu a peu s'améliorèrent.

Sur proposition du Prof. M. Nikitine de l'Institut de Médecine pour les femmes, pendant l'année on essaya l'influence des injections antirabiques sur l'épilepsie. 32 épileptiques furent traités (v. Nikitine, Roussky Vratch № 27, 1914); dans quelque cas ou remarqua une diminution des accés épileptiques.



La réaction du tryptophane et son application en bactériologie.

Par M-me **N. Pérépélizyn.**

(Section de Microbiologie générale de l'Institut Impérial de Médecine Expérimentale).

L'absence des méthodes chimiques commodes de contrôle de la marche successive du processus de la décomposition des matières albuminoïdes rend difficile l'étude de la décomposition graduelle des matières albuminoïdes sous l'influence des microbes, au point de vue de la direction et de la profondeur du processus. C'est pourquoi les réactions qui donnent la possibilité de faire dans ce sens des conclusions en opérant sur des petites quantités de matière, comme il en arrive habituellement au cours des recherches bactériologiques, sont d'autant plus importantes. On peut considérer comme une réaction pareille „l'essai du tryptophane“ qui permet de juger si la décomposition des matières albuminoïdes a atteint les stades d'acides aminés (léucine, tyrosine). Ayant pour but d'élucider le problème de l'application de cette réaction dans l'analyse bactériologique, nous voulons résumer brièvement les données chimiques concernant le tryptophane et sa combinaison haloïde et analyser les indications peu nombreuses en ce qui concerne l'application de cette réaction dans le diagnostic différentiel des bactéries; ces indications seront completées de nos observations personnelles.

La réaction du tryptophane a été trouvée par Tiedemann et Gmelin en 1826. En ajoutant au mélange alimentaire digéré de l'eau de brome, ils obtenaient une coloration rouge qui indique la présence d'un corps spécial qu'ils ont appelé substance bromique.

Stadelmann a proposé d'appeler la substance qui se forme à la digestion tryptique des matières albuminoïdes „protéinochromogène“ et sa „combinaison haloïde“ colorée en rouge-violet „protéinochrom“. Le nom „tryptophane“ a été employé, pour la première fois, par Neumeister, parce que cette substance se forme en grande quantité à la digestion tryptique. Ellinger ayant établi que le tryptophane est l'acide indolaminopropionique, on emploie souvent cette désignation rationnelle. Dans notre travail nous employons le terme de „tryptophane“ pour le produit

de dédoublement des matières albuminoïdes qui nous intéresse et le terme de „corps bromique“ pour son bromure.

Le tryptophane se forme à l'hydrolyse des matières albuminoïdes par des acides (5 % H_2SO_4), des alcalis, des bactéries et des ferments physiologiques (trypsine). La constatation de Hoppe-Seyler sur l'apparition du tryptophane au cours de la digestion peptique doit encore être confirmée. Kühne et Neumeister expliquent les résultats de Hoppe-Seyler par le fait que le liquide de ses expériences provenait d'une muqueuse qui n'était pas suffisamment propre.

Pour obtenir le tryptophane en état pur, on a proposé plusieurs méthodes (Stadelmann, Nencki, Kouraïev, Hopkins et Cole). Suivant Stadelmann, lorsqu'on fait bouillir le mélange alimentaire avec des solutions d'acides ou d'alcalis à 5%, une partie du tryptophane est détruite.

Dans l'éther et le chloroforme le tryptophane n'est pas soluble; dans l'éther acétique et l'alcool amylique il et faiblement soluble; à l'évaporation de l'alcool amylique il reste une masse brune goudronneuse, difficilement soluble dans l'eau; si l'on la traite par la benzine pour dissoudre les graisses qui s'y trouvent, le reste se dissout plus facilement dans l'eau.

Le tryptophane ne donne pas la réaction du biuret et n'est pas troublé après l'addition de l'acide acétique et de la cyanure ferreuse de potassium. Il est précipité par le sublimé (Nencki le conteste), le nitrate et le nitrite de mercure et le tannin. De même que la peptone, il se laisse dialyser et il est précipité par l'acide phospho-tungstique en réaction acide. Suivant Nencki, on peut distiller le tryptophane. Krukenberg et Neumeister contestent cette constatation. A la putréfaction il est vite détruit. Lorsqu'on chauffe le tryptophane avec du sucre et de l'acide chlorhydrique fumante, on obtient une coloration violette (réaction de Cole); suivant Kempe et Abderhalden, on obtient des nuances différentes avec des sucres différents. On obtient une coloration particulièrement nette avec le fructose, le saccharose et le raffinose.

La réaction des matières albuminoïdes d'Adamkiewicz indique, selon Hopkins et Cole, la présence du groupe de tryptophane dans la molécule albuminoïde. Lorsqu'on fait bouillir la solution de tryphtophane avec l'acide nitrique concentré, on obtient une coloration jaune. Lorsqu'on fait bouillier avec le réactif de Millon, on obtient une coloration rouge-brun. Avec des copeaux de sapin on obtient la réaction du pyrrol.

Suivant Rohde, le paradiméthylamidobenzaldéhyde, en présence des acides chlorhydrique et nitrique, donne avec le tryptophane libre une coloration rouge-violet. Suivant Hertzfeld, le tryptophane donne avec la vanilline une coloration rouge et avec le paranitrobenzaldéhyde une coloration verte.

La plupart des nombreuses conceptions concernant la nature du tryptophane (Claude Bernard, Kühne, Lauder Brunton, Bourquelot, Krukenberg, Stadelmann, Nencki, Beitler, Kouraïev, Hopkins et Cole et Ellinger) n'ont qu'une valeur historique, c'est pourquoi nous ne voulons pas les discuter ici. Hopkins et Cole considèrent le tryptophane comme un acide indolaminopropionique ou scatolaminoacétique de la composition de $C_{11}H_{12}H_2O_2$. La formation de l'acide scatolacétique à la décomposition du tryptophane par des bactéries anaérobies et la formation du scatol, de l'ammoniaque et de l'acide oxalique, lorsqu'on fait fondre le tryptophane avec de la potasse, a suggéré l'idée que le tryptophane doit être considéré comme l'acide scatolaminoacétique :

CH
C — $C . CH_3$
CH
CH — $C . CH . NH_2 . COOH$
C
CH NH

Actuellement on admet la conception d'Ellinger qui atribue au tryptophane la formule de l'acide indolaminopropionique. On ne sait pas, auquel de deux isoméres possibles correspond le tryptophane :

CH
C — $C — CH_2 — CH . NH_2 . COOH$
CH
CH — CH
C
CH NH

ou

CH
C — $C . CH . NH_2 . CH_2 . COOH$
CH
CH — CH
C
CH NH

Pour déceler la présence du tryptophane libre, on se sert habituellement de l'eau de brome ou de chlore. Tiedemann, Gmelin, Neumeister, Beitler, Erdmann et Winternitz donnent la préférence à l'eau de chlore[1]), car l'excès de brome en colorant un peu en rouge le liquide peut gêner la sensibilité de la réaction, surtout à une teneur peu élevée en tryptophane. En outre, suivant ces auteurs, la coloration est plus nette lorsqu'on se sert d'eau de chlore; ce réactif a encore cet avantage qu'il est plus commode à manier et qu'il n'excite pas les muqueuses, comme l'eau de brome.

Stadelmann, Nencki, Kouraïev, Hopkins et Cole donnent, au contraire, la préférence à l'eau de brome.

Les opinions de deux groupes d'auteurs concordent en ceci que l'excès du réactif gêne la réaction.

A un excès de l'haloïde, la combinaison rouge devient jaune et prend de nouveau la couleur rouge, lorsqu'on ajoute du tryptophane. Neuberg et Popowsky supposent qu'il s'agit de deux combinaisons haloïdes différentes, dont la jaune contient plus de brome. La réaction du tryptophane réussit aussi avec de l'iode, mais elle n'est pas aussi sensible à la suite de la coloration de la solution. Pour la réaction, on acidule un peu le liquide contenant du tryptophane avec de l'acide acétique. Suivant Neumeister, les combinaisons haloïdes du tryptophane ne se forment pas en présense de l'acide sulfurique à 5%.

Les chlorures et les bromures de tryptophane sont difficilement solubles dans l'eau. Des bromures isolés par Kouraïev, la combinaison rouge est moins soluble dans l'eau que la combinaison foncée.

Suivant les observations de Kouraïev, l'éther et le chloroforme ne dissolvent qu'une partie peu considérable de la combinaison rouge du tryptophane; dans la benzine elle est complétement insoluble. Pour l'extraction des solutions et pour séparer le tryptophane d'autres acides aminés, Neumeister a proposé d'utiliser la solubilité des combinaisons haloïdes dans l'alcool amylique. Stadelmann a pourtant montré qu'elles se détruisent dans ce dissolvant. On peut extraire par l'alcool amylique les combinaisons rouges de Kouraïev, Neuberg et Popowsky, mais les combinaisons jaune et foncée ne sont pas solubles dans ce dissolvant. En ce qui concerne la solubilité dans l'alcool éthylique, il existe un certain désaccord. Suivant Neumeister, les combinaisons haloïdes se laissent extraire par l'alcool amylique (suivant Stadelmann, seule-

1) La façon la plus simple de préparer l'eau de chlore est d'ajouter de l'acide chlorhydrique à l'hypochlorite de chaux. Il est mieux de se servir de l'eau de chlore fraîchement préparée. Si l'on la garde à l'obscurité dans un verre bien fermé, l'eau peut servir pendant huit jours.

ment partiellement). Nencki a établi qu'elles sont plus solubles dans l'alcool à 70 à 80% que dans l'alcool absolu. Le bromure foncé de Kouraïev est plus facilement soluble dans l'alcool à 20% que la combinaison rouge; au contraire dans l'alcool à 95% la combinaison rouge est plus facilement soluble.

Il en est de même en ce qui concerne l'alcool méthylique. La combinaison haloïde rouge est, suivant Neuberg et Popowsky, facilement soluble, la combinaison jaune se dissout plus difficilement.

Suivant Stadelmann, le bromure se dissout dans la soude caustique avec une couleur brune en se décomposant; à l'addition d'acide il se forme un précipité brun foncé. Les bromures de tryptophane sont solubles dans des solutions très diluées d'ammoniaque et de potasse caustique (Kouraïev). Suivant Beitler, ils changent dans ce cas leur coloration. Suivant Neuberg et Popowsky, la combinaison rouge est soluble dans des alcalis, la combinaison jaune est très peu soluble.

Suivant les observations de Nencki, Beitler et Kouraïev, lorsqu'on fait fondre les combinaisons haloïdes avec le potassium, il se forme d'abord du pyrrol, ensuite de l'ammoniaque, du scatol et de l'indol. Lorsqu'on fait fondre avec le sextuple volume de potassium à 240° à 260°, il se forme une masse brune qui ressemble à la mélanine.

En ce qui concerne les acides, on connaît les constatations suivantes: d'après Krukenberg et Kouraïev, l'acide azotique concentré détruit les combinaisons haloïdes. Kouraïev a dissout les combinaisons rouge et brune dans l'acide acétique concentré et les a précipitées de nouveau avec de l'eau. Dans les acides acétique et chlorhydrique dilués les deux substances ne sont pas solubles.

Dans le spectre des combinaisons haloïdes du tryptophane Stadelmann a trouvé une bande d'absorption correspondant à la ligne D, qui est plus accentuée dans des préparations non pures.

Beaucoup d'auteurs ont observé la décomposition des matières albuminoïdes avec la formation du tryptophane sous l'influence des microbes. Des recherches détaillées sous ce rapport ont été faites par Winternitz et Erdmann, qui ont étudié la décomposition de la peptone avec la formation du tryptophane et de l'indol sous l'influence des microbes.

Tandis que le tryptophane se rapproche par sa nature chimique de la tyrosine, l'indol appartient au groupe d'indigo; entre ces deux combinaisons il existe néanmoins une parenté chimique, parce que le tryptophane contient la chaîne de l'indol. Beaucoup de bactéries ont la propriété de former du tryptophane et de l'indol. Pour obtenir la réaction

du tryptophane sont nécessaires: l'action plus ou moins prolongée des bactéries sur les milieux nutritifs et une teneur élevée de ces milieux en peptone. Pour constater la présence de l'indol, Morris a cultivé des bactéries dans un bouillon contenant 5% de peptone pendant 10 jours à 37°. Winternitz et Erdmann ont employé le même milieu pour les essais au point de vue de la présence du tryptophane et de l'indol, bien que la sensibilité des réactions colorantes soit masquée par la coloration du milieu même. L'eau contenant 3% de peptone et 0,5 p. 100 de NaCl a des avantages sous ce rapport, mais, malheureusement, beaucoup de bactéries ne se developpent pas bien dans ce milieu, et il fallait l'abondonner. On ensemençait avec différentes bactéries des séries de tubes à essais contenant 10 cm. c. de bouillon peptoné. On les examinait tous les jours au point de vue de la présence du tryptophane et de l'indol.

Les résultats des expériences des auteurs cités plus haut sont résumés dans le tableau I. Les chiffres indiquent quel jour après l'ensemencement la réaction a été constaté, le trait (—) indique l'absence de la réaction.

On voit ainsi que la plupart des bactéries examinées ont formé du tryptophane. S'il n'y avait pas de tryptophane après 12 jours, on considérait la bactérie comme incapable de produire du tryptophane. La composition du milieu joue un grand rôle dans la production du tryptophane. Le mode de stérilisation a aussi une certaine influence. Des races isolées de la même espèce montrent des oscillations individuelles assez considérables; c'est ainsi que dans une culture du vibrion du choléra on a constaté la présence du tryptophane en viron 24 heures et dans une autre trois jours après l'ensemencement. Le *Bact. coli communi* sans former de tryptophane produit de l'indol déjà pendant les premières 24 heures. Au contraire, dans des cultures du *bac. typhique* le tryptophane se forme, 24 heures après l'ensemencement, tandis qu'on ne constate pas la présence de l'indol même après 14 jours.

Cette particularité est propre aux cultures jeunes ainsi qu'aux vieilles cultures de deux espèces citées. S'il se forme dans la culture au cours de la première semaine du tryptophane, il s'agit du *b. typhique*, s'il se forme au cours des premières 24 heures de l'indol et il n'y a pas de tryptophane pendant les 8 jours suivants, il s'agit du *b. coli* (chez cette espèce les auteurs ont constaté les premiers signes de l'apparition du tryptophane 14 jours après l'ensemencement).

Dans les expériences de Burri et Andréev 5 races étudiées du *b. paratyphique* et 5 races du *b. coli* isolées de l'herbe des prairies ont donné la réaction du tryptophane sans former d'indol. Au contraire, 5 races du *b. coli* isolées des matières fécales ont formé de l'indol et

ne donnaient pas la réaction du tryptophane. En étudiant 33 races du *Bact. suipestifer*, Andréev a trouvé que les bâtonnets qui sont de forts producteurs d'indol ne donnent pas de tryptophane.

Tableau I.

Bactéries.	Bouillon avec 5% de peptone.		Solution contenant 3% de peptone.	
	Tryptophane.	Indol.	Tryptophane.	Indol.
Vibrio cholerae asiaticae	3	1	2	1
Vibrio Finkleri	4	2	2	2
Vibrio Denecke	4	—	—	—
Vibrio Berolinensis	2	2	2	2
Bact. coli	—	1	—	1
Bact. typhi	2	—	—	—
Bac. parat. B. Strassburg	2	—	—	—
Bac. parat. C. Schottmüller	2	—	—	—
Bac. diphtheriae	2	3	5	5
Bac. mallei	10	—	—	—
Bac. pneumon. Friedl.	—	1	—	2
Staphyl. pyog. aureus	6	—	—	—
Streptococc. pyogen.	7	—	—	—
Bac. enteritidis	4	—	—	—
Bac. suisepticus	—	1	—	—
B. subtilis	3	—	—	—
B. pyocyaneus	5	—	5	—
B. acidi lactici	—	1	—	—
B. prodigiosus	4	—	—	—
Clostridium (?)	3	—	—	—
Bac. megatherium	5	—	—	—
Variété du bac. subtilis (Papageibacillus)	5	—	—	—

Pour nous familiariser avec la réaction du tryptophane, nous avons agi par l'eau de Javelle et puis par l'eau de chlore et de brome sur le tryptophane obtenu à la décomposition d'une solution acqueuse de peptone de Witte à 3% par la trypsine de Grübler (des expériences avec la pepsine ont donné un résultat négatif). Nos observations ont montré que la réaction est plus nette, lorsqu'on se sert de l'eau de brome, c'est pourquoi nous nous sommes servi de ce réactif dans nos expériences concernant les cultures microbiennes.

Nous avons essayé les températures suivantes: 37°, 27° et la temp. ordinaire.

A 37° on constate la présence du tryptophane déjà $^1/_2$ heure après l'ensemencement, a 27° la coloration par le brome est plus faible et à

la température ordinaire il n'y a pas de coloration. A 37° 48 heures après l'ensemencement, on obtient une coloration brunâtre peu typique, à la température ordinaire la solution prend dans ce cas une nuance du rouge-violet. Dans les deux cas nous avons constaté la présence du tryptophane dans des cultures jusqu'à l'âge d'un mois; nous n'avons pas fait d'observations sur des cultures plus vieilles.

Pour constater l'influence de l'acidité et de l'alcalinité du milieu sur la production du tryptophane nous avons fait l'expérience, dans laquelle des cultures à milieux neutre, faiblement alcalin et faiblement acide ont été placées à 37°. Vingt quatre heures après l'ensemencement, le milieu neutre a donné la plus forte coloration avec l'eau de brome, dans le milieu alcalin il y avait une nuance brune et dans le milieu acide la solution avait une couleur rose-jaunâtre.

Pour élucider le rôle des sels nous avons ajouté à la solution de peptone les sels suivants en quantité de 0,1 p. 100; phosphate d'ammonium et de potassium, chlorure de sodium, nitrate de potassium et sulfate de magnésie. Excepté le dernier sel, tous les autres sels ont eu une influence défavorable. Dans les milieux contenant du sulfate de magnésie de 0,05 à 3 p. 100 la coloration a été un peu plus intense.

Nos expériences ont été faites dans des tubes à essais contenant 3 cm. c. de milieu nutritif et ensemencés avec les *Bac. prodigiosus, Bac. megatherium*, *Bac. subtilis* et un microbe de putréfaction isolé dans ce laboratoire par Roussain des boues de liman. Les milieux suivants ont été essayes: 1) eau de viande additionnée de différents sels (v. plus haut); 2) milieu avec la substance nutritive de Heyden; 3) albumine d'oeuf + 90 cm. c. d'eau; 4) bouillon avec 1% à 5% de peptone; 5) eau contenant 1 à 10% de peptone avec ou sans sels (dans plusieurs expériences avec du dextrose). Les premiers trois milieux ont donné un trouble, mais n'ont pas formé de tryptophane. Le bouillon contenant 1% de peptone n'a pas donné non plus de réaction et le bouillon contenant 5% de peptone n'a donné une faible réaction que 4 à 7 jours après l'ensemencement (le retard est dû, à ce qu'il paraît, à la présence du sucre). La solution acqueuse de peptone de 2 à 5% convient le mieux. Nous nous sommes arrêté à la solution de peptone à 3% sans sels, qui retardent dans ce cas la réaction. L'influence favorable du sulfate de magnésie ne se manifestant pas toujours dans ce cas, nous nous sommes servi d'une solution acqueuse de peptone à 3% sans sels. Le dextrose en quantité de 0,05 p. 100 retardait la formation du tryptophane. Dans les cultures du *Bac. prodigiosus* et *Bac. subtilis*, le tryptophane apparaissait environ 24 heures après l'ensemencement, dans celles du *B. megatherium* environ 48 heures et chez le microbe de putréfaction (de Roussain) pendant les premières 24 heures après l'ensemencement.

Tableau II.

№№	Bactéries.	D'où provient la culture.	Milieu: peptone 3%. Le jour de l'apparition de la réaction		Développement sur les milieux nutritifs.		
			du tryptophane.	de l'indol.	Drigalski.	Endo.	Bouillon 1% avec 2% de lactose.
1	*Bact. typhi*	M. G.*)	2	—	—	—	—
2	*Bact. typhi*	I. M. E.	2	—	—	—	—
3	*Bact. typhi*	„	2	—	—	—	—
4	*Bact. coli*	M. G.	—	1	+	+	+
5	*Bact. coli (?)*	I. M. E.	2	—	—	—	—
6	*Bact. coli*	„	—	1	+	+	+
7	*Bact.* $coli_3$	Klimenko	3	3	+	+	+
8	*Bact.* $coli_6$	„	—	1			
9	*Bact.* $coli_1$	„	3	—	+	+	+
10	*Bact. coli*	Gorovitz	—	1	+	il n'y avait pas de développement.	+
11	*Bact. coli*	„	—	1	+	non plus.	+
12	*Bact. coli*	„	—	1	+	non plus.	+
13	*Bact. paracoli*	„	2	2	+	+	+
14	*Bact. paracoli*	„	—	1	—	il n'y avait pas de développement.	+
15	*Bact. paracoli*	„	—	1	+	non plus.	+
16	*Bact. paracoli*	I. M. E.	—	1	—	—	—
17	*Bact. paracoli*	„	2	—	—	—	—
18	*Bact. paratyphi A.*	„	2	—	—	—	—
19	*Bact. paratyphi A.*	„	2	—	—	—	—
20	*Bact. paratyphi A.*	M. G.	2	—	—	—	—
21	*Bact. paratyphi B.*	„	2	—	—	—	—
22	*Bact. paratyphi B.*	I. M. E.	3	—	—	—	—
23	*Bact. paratyphi B.*	„	3	—	—	—	—
24	*Bact. paratyphi B.*	Klimenko	2	—	—	—	—
25	*Bact. parat. e cane*	I. M. E.	2	—	—	—	—
26	*Bact. dysent. Schiga*	„	3	—	—	—	—
27	*Bact. dysent. Flexner'a*	„	3	—	—	—	—
28	*Bact. enteritidis Gärtn.*	„	3	—	—	—	—
29	*Bact. enteritidis Gärtn.*	Gorovitz	2	—	—	—	—
30	*Bact. cloacae*	„	1	1	on n'a pas ensemencé.		

*) Nous désignons par „M. G." la section de Microbiologie générale et par „I. M. E." l'Institut de Médecine Expérimentale.

Nous nous sommes surtout occupé du groupe du *b. coli*, parce que, suivant les données de Erdmann et Winternitz, la réaction du tryptophane peut servir pour différencier les espèces de ce groupe.

A côte de la réaction du tryptophane, nous faisions aussi la réaction de l'indol. On procédait dans ce cas (ainsi que l'a fait A. Berthelot) de la manière suivante: on ajoutait à la culture à examiner un volume égal d'éther; aprés avoir agité le mélange, on décantait la couche d'éther; l'éther était ensuite additionné d'un quart de son volume d'une solution de paradiméthylamidobenzaldéhyde (1 partie de p-diméthylamidobenzaldéhyde + 95 parties d'alcool à 96% + 20 parties d'acide chlorhydrique) et ensuite de 1 à 2 cm. c. d'acide chlorhydrique que l'on versait peu à peu. La couche d'éther se colore en présence de l'indol en rouge avec une nuance violette; la coloration violette ou bleue est caractéristique du scatol[1]).

Nous avons étudié à ce point de vue 30 différentès espèces et races du groupe *b. coli — typhique*. Un certain nombre de ces races et espèces appartient à la collection de la section de Microbiologie générale de l'Institut de Médecine Expérimentale. Plusieurs dont un certain nombre isolé par W. Klimenko appartiennent à la collection de l'Institut et ont été mises à notre disposition par M-lle N. Dmitrevsky; les autres ont été mises à notre dispositions par M-me L. Gorovitz du laboratoire de la station pour la stérilisation de l'eau par l'ozone à Petrograd[2]).

Toutes les espèces ont été cultivées, en vue de contrôle, sur les milieux de Drigalsky, Endo et dans le bouillon contenant 2% de lactose. Les résultats obtenus sont résumés sur le tableau ci-dessous. Le signe + indique qu'il y avait une coloration rouge dans les deux premiers milieux et une fermentation du lactose. Par les chiffres est indiqué le jour de l'apparition du tryptophane et de l'indol dans les cultures.

Il suit de ce tableau que chez les espèces produisant de l'indol on ne réussit pas, à la décomposition par ces espèces de la peptone, à constater la présence du tryptophane. Vu le fait constaté par Berthelot et suivant lequel ces bactéries cultivées sur des milieux contenant du tryptophane produisent énergiquement de l'indol, il était naturel de supposer que l'absence du tryptophane à la décomposition de la peptone s'explique par cela que l'acide amidé au moment de sa formation est décomposé, c'est pourquoi on ne peut pas le constater. S'il en est ainsi, on devrait le constater comme produit intermédiaire en ralentissant la marche de la réaction chez des bactéries produisant de l'indol. Pour ralentir la

1) Il est nécessaire de faire cette réaction avec l'extrait de l'éther et non pas avec le milieu nutritif, car d'autres produits de décomposition des matières protéiques (entre autres le tryptophane) donnent la même réaction colorante. Ces produits ne passent pas dans l'éther.

2) Nous saisissons l'occasion pour apporter aussi à cette place nos remerciements à toutes les personnes citées plus haut.

réaction nous avons essayé l'abaissement de la température. Tandis que, sous l'action du *B. cloacae* à 37° sur la peptone, l'indol apparait déjà plusieurs heures après l'ensemencement, à la température ordinaire on ne le constate qu'après 24 heures. Néanmoins, malgré ce ralentissement de la réaction et le fait que l'on faisait les essais, autant que possible, toutes les heures, nous n'avons pas réussi à constater la présence du tryptophane dans le milieu.

Nous avons supposé ensuite que le tryptophane ne se forme pas à la suite du fait que la décomposition de la peptone ne passe pas par le stade de l'acide amino-propionique (alanine) et par conséquent une partie composante nécessaire du tryptophane ne se forme pas dans le milieu. C'est pourquoi nous avons fait une série d'expériences, en ensemençant avec le *b. coli* le milieu de peptone additionné de 0,1 à 0,2 p. 100 d'alanine. Dans plusieurs expériences, on ajoutait de l'alanine au milieu déjà après l'apparition de l'indol. Ni dans l'un, ni dans l'autre cas nous n'avons pas réussi à provoquer la formation du tryptophane.

Les expériences qui ont eu pour but de provoquer la formation de l'indol par des bactériés décomposant la peptone avec la formation du tryptophane ont donné aussi un résultat négatif. Ont été ensemencés avec le *b. typhique* les milieux contenant 0,06 p. 100 de tryptophane dans l'eau de conduite sans autres substances on additionnés dans des cas isolés: 1) de 0,5 p. 100 d'asparagine 2) de 0,5 p. 100 de phosphate de potassium et 1% de sulfate de magnésie et 3) de 4% de peptone. Ces cultures gardées à 37° n'ont pas formé d'indol.

En se basant sur les données citées dans ce travail, on peut faire les conclusions suivantes:

1) Les bactéries citées du groupe des *b. typhique* et *paratyphique* en décomposant la peptone avec la formation du tryptophane, n'ont pas formé d'indol.

2) A l'action sur la peptone des bactéries du groupe du *b. coli* dans la plupart des cas le tryptophane ne se formait pas (à l'exception de №№ 5, 7, 9, 13 et 17 du tableau II), l'indol apparaissait pendant les premières 24 heures après l'ensemencement (dans les №№ 5, 9 et 17 il n'y avait pas d'indol).

3) Dans la plupart des cas, la présence du tryptophane dans le milieu exclut celle de l'indol et inversement, mais parfois on constate leur présence simultanée (№№ 7, 13 et 30 du tableau II).

4) Les changements produits dans les milieux de Drigalski, Endo et dans le bouillon contenant 2% de lactose et caractéristiques du *b. coli* se font par les espèces qui donnent une réaction nette de l'indol, mais il y a aussi des exceptions dans ce cas (№№ 9 et 16 du tableau II).

5) La réaction du tryptophane n'a qu'une portée assez limitée pour le diagnostic différentiel. Elle ne peut servir que de moyen auxiliaire à côté des autres moyens de diagnostic des microbes.

Il m'est un devoir agréable d'exprimer aussi à cette place les sentiments de ma profonde gratitude à M. V. Omeliansky pour ses indications et pour l'appui qu'il m'a apporté au cours de ce travail.

Bibliographie.

Abderhalden und Kempe, *Zeitschrift für physiologische Chemie*, t. 52, p. 207, 1907.

Adamkiewicz, *Arch. f. d. Ges. Physiol.*, t. 9, p. 156, 1874.

Andrejew, *Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt*, t. 33, p. 363, 1910.

Beitler, *Ber. d. d. chem. Ges.*, t. XXXI, p. 1604.

Berthelot, Recherches sur le Proteus vulgaris. *Annales de l'Institut Pasteur*, № 9—10, 1914.

Bourquelot, Recherches sur les phenols de la digestion chez les Mollusques cephalopodes. *Arch. de Zool. expér. et gen.* 2, Sér. 7, 3. 1885.

Burri und Andrejew, *Centr. f. Bakt.*, Orig., t. 56, p. 230, 1910.

Claude Bernard, Mémoire sur le pancréas, *Comptes rendus de l'Ac.* supplément *I.* 1856, p. 403.

Cole, On certain colour reactions of proteid due to tryptophan. *Journal of Physiol.*, t. XXX.

Ellinger, *Ber. d. d. chem. Ges.*, t. 39, 1906.

Hemala, cité d'après Stadelmann.

Herzfeld, *Biochem. Zeitschrift*, t. 56, p. 258, 1913.

Hopkins and Cole, *Journal of Physiology* t. 26, 1901, cité d'après Neuberg et Popowsky.

Hoppe-Seyler, Physiol. Chemie, t. II.

Krukenberg, Chemische Untersuchungen zur wissenschaftlichen Medizin; cité d'après Stadelmann.

Kühne, *Ber. d. d. chem. Ges.*, t. VIII, p. 206, 1875.

Kühne und Neumeister, *Verhandlungen des naturhistor. medic. Vereins zu Heidelberg*, № 5, t. I, fasc. 3.

Kurajeff, *Zeitschrift für physiologische Chemie*, t. 26, p. 501, 1898—99.

Lauder Brunton, A Burdon Sanderson Handbook for the Physiological Laboratory. Traduction de Moquin Taudon. Paris, 1884.

Nencki, Opera omnia, t. II, 1895.

Neuberg und Popowsky, *Biochemische Zeitschrift*, t. 2, p. 357, 1907.

Neumeister, *Zeitschrift für Biologie*, t. XXVI, p. 324, 1890.

„ Beiträge zur Chemie der Verdauungsvorgänge. *Sitzungsberichte der physikal.-medic. Ges. in Würzburg*, 1889.

Rohde, *Zeitschrift f. physiol. Chem.*, t. 44, p. 161, 1905.

Stadelmann, *Zeitschrift für Biologie*, t. 26, p. 491, 1890.

Tiedemann und Gmelin, Die Verdauung nach Versuchen. Heidelberg.



Contribution à la physiologie du pancréas.

Par **L. A. Orbeli** et **K. M. Bykov.**

(Section de Physiologie de l'Institut Impérial de Médecine Expérimentale.)

Au printemps de l'année 1914 nous avons entrepris des recherches qui avaient pour but de réproduire d'une manière modifiée les expériences de Buchstab qui a étudié comment se comporte le pancréas lorsqu'on coupe de deux côtés les nerfs pneumogastriques. Ces recherches n'ont pu être menées jusqu'au bout, car pendant l'opération où il s'agissait de couper le deuxième nerf pneumogastique (gauche) et qui a été faite dans des conditions difficiles (dans l'endroit entre les ramifications cardiaques et le n. laryngeus inferior) le chien a succombé. Vu le fait que les observations faites au cours de cette expérience qui n'a pu étre terminée présentent un certain intérêt et que la répétition de tout le travail exige au moins toute une année, nous avons pris la décision de publier les données recueillies par nous, en les complétant de certaines considérations, sans faire de conclusions décisives.

Vers la fin du mois de mai de l'année 1914 on a fait au chien „Tchaïka" en une seule fois une fistule chronique du canal pancréatique inférieur et une fistule de l'estomac. Le canal pancréatique supérieur n'a pas été ligaturé. Le chien a supporté bien l'opération et grâce au regime, à l'administration des petites quantités de carbonate de soude et, peut-être, aussi à ce que le canal inférieur etait relativement étroit, il n'a pas eu à souffrir de la perte chronique du suc pancréatique. Nous n'avons pas pris de mesures spéciales pour éviter ces pertes en fermant le canal pendant le temps en dehors des expériences. Ensuite, pendant environ huit mois l'état du chien était excellent, il a gardé son appetit, la digestion était normale, il ne tombait pas et a augmenté même de poids. Le chien a succombé le 29 janvier 1915 accidentellement pendant l'opération. Le chien a été pris sous l'observation systématique le 26 juin, c. a. d. un mois après la première opération. Nous avons été obligés d'interrompre notre travail du 18 juillet jusqu'au 25 septembre.

Toutes les expériences ont été faites 16 à 20 heures après le repas que l'on donnait au chien vers 4 à 6 heures du soir.

Avant le commencement de l'expérience, on ouvrait la fistule de l'estomac, et s'il y avait dans l'estomac des restes de nourriture ou du poil, on lavait l'estomac plusieurs fois avec de l'eau tiède et on ne donnait à manger au chien ou on ne commençait à introduire dans la fistule différents excitants que lorsque, la fistule restant ouverte, toute l'eau de lavage s'était écoulée et toute sécrétion avait cessé. Le suc de toute une periode de sécrétion était recueilli par un entonnoir dans un cylindre propre, on déterminait la teneur en azote d'après Kjeldahl de cette quantité brute de suc.

Les expériences ont porté sur les excitants suivants du pancréas: a) excitants introduits par ingestion: 300 cm. c. de lait, 50 gr. viande, 125 gr. de pain blanc, 50 gr. de pain blanc avec 125 cm. c. d'eau; b) excitants introduits directement dans l'estomac: 100 cm. c. d'une solution de Natrii Oleinici à 5%, une émulsion de 20 cm. c. d'huile d'olive dans 250 cm. c. d'eau, 200 cm. c. d'une solution d'acide chlorhydrique à $^1/_4$ p. 100, 400 à 600 cm. c. d'acide chlorhydrique à $^1/_8$ p. 100. Nous nous sommes servis à dessein de petites quantités de substances alimentaires, car, suivant le plan de notre travail, le deux nerfs pneumogastriques devaient être coupés, ce qui devait inévitablement retarder le passage des aliments dans l'intestin et prolonger ainsi la période de sécretion, et cependant il fallait recueillir le suc pour toute la période de sécretiou.

Toutes nos observations peuvent être groupées en trois périodes.

La première période embrasse le temps du 26 juin jusqu'au 18 juillet (le deuxième mois après l'opération) et suit immédiatement l'opération.

La deuxième période du 29 septembre jusqu'au 20 décembre (4ième, 5ième et 6ième mois après l'opération) présente la période de l'équilibre complet de l'organisme.

La troisième période qui suit directement la deuxième (du 20 décembre jusqu'au 28 janvier) se distingue par ceci que l'on a coupé chez le chien le nerf pneumogastrique droit dans la cavité thoracique au dessous de la plupart des ramifications cardiaques.

Pendant chacune de ces périodes on a fait plusieurs experiences en se servant de différents excitants. Les résultats sont résumés par période dans les trois tableaux qui suivent. Nous voulons ajouter que nous citons toutes les expériences sans exception.

1.

Heidenhain, comme on le sait, a montré, le premier, que la production des substances organiques et la sécrétion d'eau par le pancréas présèntent deux processus indépendants, c'est pourquoi dans beaucoup de cas la quantité de suc secreté et la teneur du suc en matières organiques augmentent en méme temps.

Cette conclusion a été confirmé par Walther, qui a étudié ce problème d'une manière détaillée et qui a établi que le travail du pancréas dépend des propriétés des excitants de telle manière, qu'à chaque sorte de matières alimentaires correspond une sécretion typique par sa quantité

et par sa teneur en matières organiques. Les opinions de Heidenhain et de Walther ont rencontré une forte opposition de la part de Popielsky et Mazurkievitch, qui affirment que le travail du pancréas n'est pas typique pour diffèrentes sortes de nourriture, que la teneur en matières organiques du suc pancréatique se trouve toujours en proportion inverse de la vitesse de la sécrétion qui est déterminée, à son tour, par la force de l'excitant.

Pourtant les constatations et les conclusions de Walther ont été confirmées par une série de travaux qui ont apparu pendant les dernières années. Nous trouvons, entre autres, dans les travaux de Babkine, Savitch, Bylina etc. beaucoup de données qui démontrent l'existence de deux catégories d'excitants de la sécrétion pancréatique: une qui agit par voie humorale (Bayliss et Starling) et qui provoque la sécrétion du suc liquide avec une teneur peu élevée en matières organiques, l'autre qui agit par l'intermédiaire du système nerveux et qui provoque la sécrétion d'un suc dense, riche en matières organiques. On observe aussi de fortes differences en ce qui concerne la teneur en matières organiques à des vitesses de sécretion égales. Bien que c'est à peine qu'il y ait des raisons actuellement pour contester les opinions de Heidenhain et Walther, mais vu l'importance exceptionnelle du problème, une nouvelle confirmation n'est pas à négliger. Nous trouvons une telle confirmation dans les constatations que nous avons faites au cours de nos expériences.

Ces constatations nous montrent notamment que bien que la première période se distingue de la deuxième par une sécrétion plus abondante, par une durée de sécrétion plus longue et par une teneur en azote plus basse des sucs provoqués par les excitants alimentaires, il n'y pas au fond de différence entre ces périodes. Cependant, déjà au cours de la première période se dessinent nettement des différences en ce qui concerne la teneur en azote des sucs dont la sécrétion a été provoquée par des excitants différents: les chiffres les plus élevés sont donnés par le lait (0,69—0,50), puis par le pain (0,50—0,33), puis par la viande (0,31—0,30). Malgré la mêmè vitesse de sécrétion, la différence est nette dans beaucoup de cas. Parmi les excitants non alimentaires, le savon donne un suc analogue, en ce qui concerne sa teneur en azote, au suc qui est sécréte après l'ingestion du lait, tandis qu'à l'introduction de l'acide chlorhydrique on obtient des chiffres considerablement plus bas qu'à l'ingestion des substances alimentaires. (V. tableau I).

Nous constatons les mêmes rapports dans les expériences de la deuxième période. (V. tableau II). Parmi les expériences de cette période, il faut surtout mentionner celles avec l'acide chlorhydrique, où pour telle ou telle autre cause la vittesse de la sécrétion était trés basse.

Tableau I.

Excitant.	Mois et date.	Quantité de suc en cm. c.	Durée de la sécrétion en heures.	Vitesse moyenne de sécrétion pour 15 min.	Teneur en N en %.	Observations.
300 c. c. de lait.	26/VI	31,3	7	1,12	0,69	Dans ce tableau et dans les tableaux suivants la teneur en azote présente la moyenne de deux déterminations.
	1/VII	54,2	7	1,94	0,52	
	15/VII	51,4	$7^3/_4$	1,67	0,50	
125 gr. de pain.	7/VII	40,7	$7^1/_4$	1,40	0,50	
	14/VII	72,0	$9^3/_4$	1,85	0,33	
50 gr. de viande.	27/VI	66,4	$5^3/_4$	2,83	0,31	
	10/VII	51,5	$7^1/_4$	1,78	0,30	
100 c. c. 5% NaOlein.	11/VII	18,3	$6^3/_4$	0,68	0,65	
200 c. c. 0,25% HCl.	3/VII	34,9	2	4,36	0,19	
	9/VII	43,2	2	5,4	0,14	

C'est ainsi que dans l'expérience du 8/XII avec la solution d'acide chlorhydrique à $^1/_4$ p. 100, malgré la vitesse de sécrétion très petite (1,02), correspondant aux vitesses moyennes et petites à l'action des excitants alimentaires, la teneur en azote est excessivement basse (0,260).

Dans les expériences avec l'acide chlorhydrique, on constate un rapport bien déterminé entre la vitesse de sécrétion et la teneur en azote: la teneur en azote descend presque en ligne directe à l'augmentation de la vitesse de sécrétion. ce qui devait d'ailleurs arriver à l'application d'un excitant homogène simple qui agit dans différents cas avec une force inégale. Au contraire, lorsqu'on fait agir d'autres excitants, on trouve un lien moins étroit entre la vitesse de sécrétion et la teneur en azote; à la même vitesse de sécrétion la teneur en azote varie dans des limites assez larges et, inversement, on constate la même teneur en azote à des vitesses de sécrétion différentes. On comprend que des rapport pareils sont bien naturels, si l'on prend en consideration que ces excitants provoquent le travail du pancréas par deux mécanismes de sécrétion indépendants [par le système nerveux et par voie humorale (à l'action de l'acide)] et que le degré de participation de chacun de ces mécanismes peut varier dans certaines limites non seulement à l'action des excitants différents (p. e., du lait, du pain, de la viande), mais aussi dans des cas isolés, à l'application du même excitant, avec l'état de l'organisme et la variation de certaines autres conditions.

A ce point de vue ont un intérêt particulier les „exceptions“ qui sautent aux yeux, lorsqu'on examine les chiffres assez uniformes du

Tableau II.

Excitant.	Mois et date.	Quantité de suc en cm. c.	Durée de la sécrétion en heures.	Vitesse moyenne de sécrétion pour 15 min.	Teneur en N en %.	Observations.
300 c. c. de lait.	2/X	18,1	6	0,81	0,558	25/IX et 1/X expériences avec $^1/_4$% HCl.
	8/X	25,7	$5^1/_2$	1,17	0,733	
	16/X	20,4	$4^3/_4$	1,07	0,716	15/X $^1/_8$% HCl.
	29/X	21,1	4	1,32	0,469	23/X malade, grouillement, sécrét. spontanée. 24/X expér. avec Natr. Olein.
	12/XI	10,4	$5^1/_4$	0,50	0,661	1/XI et 5/XI Ol. Olivar., 7/XI et 8/XI sécrét. spont. (Comp. expér. du 13/XI avec le pain).
	26/XI	49,2	$6^1/_4$	1,97	0,623	
	27/XI	30,9	$6^1/_2$	1,19	0,651	
	15/XII	22,1	$5^3/_4$	0,97	0,503	8/XII et 12/XII $^1/_4$% HCl.; 13/XII sécrét. spont.
125 gr. de pain.	9/X	95,4	$7^1/_2$	3,18	0,394	
50 gr. de pain. + 125 c. c. d'eau.	18/X	43,1	$5^1/_4$	2,05	0,402	
	22/X	18,5	$5^3/_4$	0,80	0,482	20/X $^1/_8$% HCl., 21/XI viande.
	30/X	44,0	5	2,20	0,353	
	13/XI	15,2	4	0,95	0,605	1/XI et 5/XI Ol. Oliv.; 7/XI et 8/XI sécrét. spont. (Comp. expér. du 12/XI avec le lait.)
	17/XII	20,2	4	1,26	0,472	
50 gr. de viande.	10/X	32,2	$6^1/_4$	1,30	0,511	
	17/X	43,8	$4^3/_4$	2,30	0,339	
	21/X	34,8	5	1,74	0,364	
	31/X	36,9	$5^1/_2$	1,68	0,427	
	5/XII	21,5	$4^1/_2$	1,19	0,656	1/XII Ol. Oliv. (Comp. exp. du 8/XII avec HCl.)
20 c. c. Ol. Oliv.+250 c.c. d'eau.	1/XI	19,7	3	1,64	0,524	
	5/XI	21,4	$3^1/_2$	1,53	0,473	
	1/XII	17,5	$3^1/_4$	1,35	0,561	
100 c. c. 5% Natr. Olein.	4/X	18,6	4	1,16	0,576	
	11/X	41,5	$5^1/_2$	1,89	0,436	
	24/X	16,5	4	1,03	0,323	23/X grouillement, sécrét. spont. (Comp. exp. du 29/X avec le lait.)
0,125% HCl. 600 c. c.	15/X	26,6	6	1,11	0,313	
0,125% HCl. 400 c. c.	20/X	14,9	$2^1/_4$	1,66	0,203	
	19/XI	7,6	$1^3/_4$	1,09	0,314	
200 c. c. 0,25% HCl.	25/IX	156,8	$2^3/_4$	14,26	0,09	
	1/X	75,6	2	9,45	0,10	
	15/XI	45,3	$2^1/_2$	4,53	0,170	
	8/XII	7,1	$1^3/_4$	1,02	0,260	1/XII Ol. Olivar. (Comp. exp. du 5/XII avec la viande).
	12/XII	56,9	$2^1/_4$	6,32	0,147	

tableau II et qui à l'analyse superficielle paraissent contredire les conceptions de Walther. Parmi une série de chiffres qui témoignent d'une teneur élevée du suc en azote à l'ingestion du lait, trois chiffres relativement bas font exception:

Dans un de ces cas (exp. du 29/X) nous avons évidemment affaire à un état pathologique: le 23/X il a été impossible de faire l'expérience, car le chien a refusé de manger, il était triste, durant plusieurs heures une sécrétion spontannée avait lieu chez le chien, on entendait un fort grouillement; malgré cet état nous avons versé au chien le 24/X une solution de Na Oleinici à 5% et nous avons obtenu un suc avec une teneur excessivement petite en azote (v. exp. du 24/X tabl. II). Par cette introduction nous avons probablement aggravé l'état maladif et l'interruption de 4 jours n'a pas suffi pour rétablir complétement l'animal. Dans l'expérience suivante (30/X) avec le pain la teneur en azote est aussi relativement petite.

Quant aux deux autres cas, il nous semble qu'ici se fait sentir l'influence des expériences précédentes avec l'acide chlorhydrique. Les expériences du 25/IX et du 1/X avec l'acide chlorhydrique à $^{1}/_{4}$ p. 100 précèdent l'expérience du 2/X avec le lait et les expériences du 8/XII et du 12/XII avec le même acide précèdent l'expérience du 15/XII. On a l'impression que les expériences avec l'acide chlorhydrique laissent des traces, retentissent sur les expériences suivantes en provoquant une certaine diminution de la teneur en azote. En prenant en considération que dans les deux cas avait lieu une sécrétion relativement petite et lente, on peut supposer que cette diminution de la teneur en azote s'explique non pas par l'augmentation de la phase acide de la sécrétion, mais plutôt par la limitation de la phase nerveuse.

Cette influence consécutive de l'acide chlorhydrique doit, à ce qu'il paraît, être attribuée à son action locale sur l'appareil digestif, car les expériences avec les solutions de $^{1}/_{8}$ p. 100 n'ont pas retenti d'une manière si sensible sur les expériences suivantes, bien que la quantité générale de l'acide introduit dans l'organisme eût été la même ou même plus grande (400 cm. c. ou 600 cm. c. de solution à $^{1}/_{8}$ p. 100 au lieu de 200 cm. c. de solution à $^{1}/_{4}$ p. 100). Ainsi, dans l'expérience avec le lait du 16/X la teneur en azote est de 0,716, cette expérience a été pourtant précédée de l'expérience du 15/X avec HCl à $^{1}/_{8}$ p. 100.

On observe en même temps des exceptions de caractère opposé; parmi les expériences avec 50 gr. de pain et 125 cm. c. d'eau, on doit noter celle du 13/XI et parmi les expériences avec la viande celle du 5/XII, où la quantité générale de suc n'était pas grande et la teneur en azote excessivement haute.

A l'analyse de l'histoire de ces expériences saute aux yeux le fait

que ces deux expériences ont été faites quelques jours après les expériences avec l'introduction de 20 cm. c. d'huile d'olive. Il est intéressant que ces expériences avec la graisse ont influencé une fois aussi le résultat de l'expérience avec le lait (12/XI), où elles ont provoqué une forte diminution de la quantité générale de suc, mais n'ont pas diminué la teneur en azote. Tout ce tableau de l'influence consécutive de la graisse suggère l'idée que nous avons affaire à la disparition ou à la forte limitation de la phase acide; le pain et la viande provoquent une sécrétion caractéristique des excitants du mécanisme nerveux. Cette supposition trouve une confirmation assez probante dans le fait que l'expérience avec la graisse du 1/XII a influencé l'effet de l'acide chlorhydrique qui a donné dans l'expérience du 8/XII une très faible sécrétion de suc. On a observé un fait complétement analogue plus tard, lorsqu'on a coupé le nerf pneumogastrique droit: le 4/I on a introduit de l'huile d'olive et le 12/I l'acide chlorhydrique à $^1/_4$ p. 100 a donné un très faible effet, il fallait introduire encore une fois la même quantité d'acide pour exciter la glande d'une manière suffisante et pour obtenir une sécrétion sensible (v. tabl. III).

Tableau III.

Excitant.	Mois et date.	Quantité de suc en cm. c.	Durée de la sécrétion en heures.	Vitesse moyenne de sécrétion pour 15 min.	Teneur en N en %.	Observations.
300 c. c. de lait.	2/I	14,6	$5^1/_2$	0,66	0,920	
	10/I	28,2	6	1,18	0,802	
50 gr. de pain + 125 c. c. d'eau.	8/I	21,5	$5^1/_2$	0,98	0,935	
	14/I	20,0	$4^1/_2$	1,11	0,559	12/I HCl $^1/_4$%.
50 gr. de viande.	16/I	21,1	$5^1/_4$	1,01	0,752	
	20/I	22,3	6	0,93	0,544	
20 c. c. Ol. Oliv.+250 c.c. d'eau.	4/I	20,9	$3^1/_4$	1,61	0,838	
100 c. c. 5% Natr. Olein.	28/XII	16,4	3	1,37	0,768	
200 c. c. 0,25% HCl.	30/XII	53,1	$1^3/_4$	7,58	0,153	
	12/Ia	8,0	$1^3/_4$	1,14	0,193	4/I Ol. Olivar.
	12/Ib.	35,9	$1^3/_4$	5,13	0,129	

On doit ainsi supposer que l'introduction de la graisse (Olei Olivarum) provoque un changement de longue durée de l'état du canal digestif, un changement qui consiste dans un fort affaiblissement de l'influence

de l'acide, comme excitant du travail du pancréas. Certainement, si l'on prend en considération le nombre limité et le caractère accidentel de nos observations, qui se sont manifestées seulement à l'analyse des constatations recueillies et qui apparaissent comme le résultat imprévu de l'alternance des expériences, nos explications ne doivent être considérées que comme une simple supposition, et nous mêmes nous les considérons comme telle. Et si nous nous décidons d'émettre ces suppositions, c'est parce que, d'une part, le nombre peu considérable de ces observations a tout de même un caractère bien déterminé, d'autre part, il existe déjà un nombre suffisant de faits, qui témoignent de changements de longue durée qui ont lieu dans le caractère du travail secrétoire et moteur de différentes parties du canal digestif sous l'influence de l'introduction de l'acide chlorhydrique et de la graisse.

Pourtant cette question qui concerne les changements opposés de l'état du canal digestif et, par conséquence, de la réaction du pancréas à l'action des excitants nerveux et humoraux, présente un grand intérêt, parce que dans ce fait nous avons, peut être, la clef pour l'interprétation de l'influence des différents régimes alimentaires sur le caractère du travail du pancréas qui a été déjà observée par différents auteurs.

2.

En passant à l'analyse des données de la troisième période, résumées dans le tableau III, nous devons constater que, contrairement à ce que nous avons attendu, la section d'un seul nerf, notamment du nerf pneumogastrique droit n'était pas indifférente pour le travail du pancréas; si l'on prend encore en considération que la première expérience après cette opération n'a été faite que dix jours après la dernière expérience avant cette opération et que le régime du chien a été, à l'exception de deux jour de jeûne après l'opération, tout le temps le même, on a à peine droit d'attribuer les résultats à une cause autre que la section du nerf. L'influence de la section consistait en ceci que dans les expériences avec tous les excitants, à l'exception de l'acide chlorhydrique, on a obtenu une forte augmentation de la teneur en azote par rapport à celle que l'on a observée avant la section. La teneur en azote atteint des grandeurs que l'on n'a observées dans aucune des expériences de la période normale.

Au cas où l'on se sert de la graisse ou de Natrii Oleinici, l'augmentation de la teneur en azote n'est pas liée à la diminution de la quantité générale de suc et de la vitesse de sécrétion, tandis que dans les expériences avec le lait, le pain et la viande les grandeurs de la vitesse de sécrétion et de la quantité générale correspondent aux petites grandeurs de la période normale, mais ne sont nullement inférieures à celles-ci.

L'augmentation de la teneur en azote ne peut ainsi être expliquée par la seule diminution de la vitesse de sécrétion, car on l'observe aussi, lorsqu'on compare des cas à des vitesses égales.

Malheureusement désirant atteindre le but que nous nous avons posé au début et couper aussi vite que possible les nerfs de deux côtés pour avoir plus de droits de comparer les résultats, nous ne nous sommes bornés dans la période, où le nerf droit était coupé qu'au petit nombre d'expériences citées plus haut, et ce résultat intéressant inattendu n'a pu être vérifié. On ne sait pas si le résultat de la section unilatérale du nerf pneumogastrique est stable; on ne connait pas non plus le mécanisme des changements qui se font dans ce cas. On ne peut dire que l'on a affaire à la prédomination du mécanisme nerveux sur le mécanisme humoral, car l'acide introduit dans trois cas a donné un suc avec une teneur basse, complétement normale en azote. En ce qui concerne l'explication de cette prédomination, il faut exclure la supposition concernant la diminution du pouvoir de réagir à l'action de l'acide, car dans l'expérience du 30/XII, où il n'y a pas d'influence de la graisse (v. tabl. III), l'acide a donné un effet normal non seulement par rapport à la composition du suc, mais aussi par rapport à la vitesse de la sécrétion.

Par conséquent au cas, où ce fait se confirme, on doit avoir en vue une de deux possibilités: ou bien le travail des glandes de l'estomac est limité, ce qui entraîne la diminution de l'influence de l'acide, ou bien d'autres influences, qui tempérent dans des conditions normales la production des substances organiques du suc, s'affaiblissent.

Le fait lui-même devant encore être vérifié et controlé, il n'est pas possible de s'arrêter à une explication déterminée. En tout cas, on doit être excessivement prudent en ce qui concerne les conclusions, car il s'agit d'un fait paradoxal; mais il faut ajouter qu'il est bien possible que ce paradoxe n'est qu'apparent, si l'on prend en considération prémièrement qu'il existe, à ce quil paraît, dans les nerfs pneumogastriques non seulement des fibres de sécrétion, mais aussi des fibres d'inhibition (Popielsky, Anrep), et deuxièmement que le nerf pneumogastrique droit s'étend principalement dans la région du fond de l'estomac et le nerf gauche dans la région du pylore.

Ainsi les données que nous avons constatées:

1) confirment encore une fois la constatation déjà ancienne, suivant laquelle la production des parties solides et liquides du suc pancréatique présente deux processus indépendants;

2) indiquent que sous l'influence de l'acide chlorhydrique et de la graisse se développent deux changements de caractère opposé dans l'activité du pancréas: sous l'influence de l'acide chlorhydrique il y a une tendance à l'abaissement de la teneur en azote, sous l'influence de la

graisse à la limitation de la sécrétion humorale et, par conséquence, à l'augmentation de la teneur en azote;

3) témoignent de ce que dans notre cas, jusqu'à présent unique, la section du nerf pneumogastrique droit seul a conduit au changement du travail du pancréas dans le sens de la production du suc à une teneur augmentée en azote.

Bibliographie.

1. J. Buchstab. „Le travail du pancréas après la section des nerfs pneumogastriques et splanchniques". Thèse St. Petersbourg. 1904.
2. R. Heidenhain. „La physiologie des processus de sécrétion". Traité de physiologie de Hermann.
3. A. A. Walther. „Le travail sécrétoire du pancréas". Thèse St. Petersbourg. 1897.
4. L. Popielsky. „Les causes de la diversité des propriétés du suc pancréatique par rapport à la protéolyse." Roussky Vratch, 1902, p. 679.
5. W. Mazurkiewitcz. „Die festen Bestandteile des Bauchspeichels und die Theorie der Secretionstätigkeit des Pankreas". Pflüger's Arch. t. CXXI, 1907, p. 75.
6. V. Savitch. „Contribution a la physiologie de la sécrétion du suc pancréatique". *Travaux de l'Academie Militaire Impériale de Médecine,* 1908. Le même travail dans *Centrbl. f. d. ges. Physiol. u. Pathol. d. Stoffwechsels,* 1909.
7. B. Babkine. „Au problème du travail sécrétoire du pancréas". *Travaux de l'Académie Militaire Impériale de Médecine,* 1904.
8. B. Babkine et V. Savitch. „Au problème de la teneur en parties solides du suc pancréatique obtenu à l'emploi de différents excitants. *Travaux de l'Ac. Milit. Impér. de Médecine,* 1908. Le même travail *Zeitschr. f. Physiol. Chemie,* t. LVI, 1908.
9. A. Bylina. „Normale Pankreassecretion als Synthese von nervösem und humoralem Einfluss". Pflüger's Arch., t. CXLII, 1911, p. 531. Le même travail Arch. des Sciences Biologiques, t. XVII, 1911.
10. W. M. Bayliss and E. H. Starling. „The mechanism of pancreatic secretion". *The Journ. of Phys.* Vol. 28, 1902.
11. L. Popielsky. „Sur les nerfs retardant la sécrétion du pancréas". Thèse St. Petersbourg. 1896.
12. G. von-Anrep. *Journ. of Phys.* 1914.



Sur la physiologie et la biologie des bactéries fixant l'azote.

Par. **V. Omeliansky.**

Article premier.

Azotobacter chroococcum.

(Avec 3 figures dans le texte et une planche.)

Dans une série d'articles précédents[1]) j'ai eu déjà l'occasion de m'arrêter à certains problèmes se rapportant à la physiologie et à la biologie des bactéries fixant l'azote. Mais ces articles ont porté un caractère spécial et ne touchaient que des problèmes isolés bien limités. Pourtant, la physiologie des bactéries fixant l'azote présente un grand intérêt scientifique dans son ensemble, en tant qu'elle est élucidée par des nombreuses recherches dans ce domaine. Dans cet article nous faisons l'essai de résumer les données bibliographiques nombreuses et peu systématisées jusqu'à présent, concernant la physiologie et la biologie de l'*Azotobacter chroococcum.* Ces données sont completées de nos recherches personnelles dans ce domaine.

En parlant de la physiologie et la biologie, je prends ces termes dans le sens vaste de ces mots; c'est pourquoi je traite dans cet article les méthodes d'accumulation de l'*Azotobacter* dans les cultures (culture élective), les méthodes de son isolement, le développement sur des milieux liquides et solides, l'influence de la température, de l'aération etc. Mais c'est surtout le problème qui présente l'intérêt central de la physiologie de ce microbe, le problème de son pouvoir de fixer l'azote libre de l'atmosphère qui nous occupera dans les pages qui suivent.

1) V. l'index bibliographique à la fin de cet article.

Pour isoler l'*Azotobacter*, on ensemence habituellement avec de la terre bien que, comme nous le savons [Omeliansky et Solounskov (1)], cette espèce soit très répandue dans la nature et puisse être isolée des matières les plus diverses. Pour la réussité de l'ensemencement, il ne faut pas prendre des quantités de terre trop petites. Sur 100 cm. c. de solution nutritive Beijerinck (1) prend 0, gr. 1 à 0, gr. 2 de terre de jardin, mais il faut reconnaître que cette quantité n'est pas suffisante. Hoffmann et Hammer (2) prennent pour l'ensemencement jusqu'à 5 gr. de terre, Heinze (3), Lipman (2) et Löhnis (2) jusqu'à 10 gr. et Gerlach et Vogel (1) même jusqu'a 20 gr. De telles quantités de terre pour l'ensemencement doivent être reconnues comme excessives pour cette seule raison que la terre apporte des changements essentiels dans la composition du milieu en diminuant dans certains cas ses propriétés nutritives. Suivant mes observations, 1 à 2 gr. de terre sur 100 cm c. de solution nutritive sont suffisants pour la réussité de l'ensemencement; si la terre contient des cellules viables de l'*Azotobacter*, il forme vite le voile caractéristique à la surface du milieu.

Dans ses premiers travaux, Beijerinck (1) c'est servi d'un milieu très simple pour les cultures de l'*Azotobacter*:

Eau de conduite	1000 cm. c.
Mannite	20 gr.
Phosphate bipotassique .	0,2 gr. à 0,5 gr.

La mannite sert pour arrêter le développement des ferments butyriques, ce qui est surtout nécessaire aux cas, où dans la terre que l'on étudie il y a beaucoup de bactéries butyriques, comme par exemple dans les terres lourdes, argileuses, dans les terres marécageuses etc. Une petite quantité de phosphate de potassium donne au milieu une réaction légerement alcaline favorisant le développement de l'*Azotobacter*, qui est, en général, assez sensible à la réaction du milieu et qui, à quelques rares exceptions près *(Az. vinelandii)*, supporte mal une réaction acide. C'est pourquoi Stoklasa (1) conseille d'ajouter au milieu de Beijerinck 0,025 p. 100 de carbonate de soude, ce qui d'ailleurs n'est pas absolument nécessaire.

Dans la suite, Beijerinck (3) se servait pour l'isolement de l'*Azotobacter* de la terre d'un milieu contenant 2% de malate de calcium. On peut se servir de sels d'autres acides organiques — propionique, butyrique, lactique, succinique, acétique, citrique (disposés dans l'ordre descendant en ce qui concerne leur valeur nutritive). Dans les milieux contenant les acides formique et tartrique, l'*Azotobacter* ne se dévéloppe presque pas. Suivant Beijerinck (1), les matières hydrocarbonées suivantes peuvent servir à la nutrition de l'*Azotobacter*: le dextrose, le

lévulose, le galactose, le saccharose[1]) et le maltose (le lactose ne lui convient pas). Parmi les alcools, outre la mannite, la glycérine et l'alcool éthylique (pas au-dessus de 2 à 3%) lui conviennent.

Depuis l'apparition des premiers travaux de Beijerinck (1), on a proposé différents milieux pour l'accumulation de l'*Azotobacter*. Ainsi Gerlach et Vogel (1), Freudenreich (1) Lipman et Prazmowski (1) ont remplacé la mannite par le dextrose, ce qui n'est pas comme nous l'avons déjà indiqué, rationnel. Löhnis (1), tout en gardant la mannite, la prend en quantité de 1% et remplace l'eau de conduite par l'extrait de la terre. On ne peut considérer comme heureuse l'idée de remplacer l'eau de conduite par l'extrait de la terre, car cet extrait peut contenir dans certains cas des matières qui gênent le développement de l'*Azotobacter*[2]). Il est plus rationnel, ainsi que l'ont fait certains auteurs, de remplacer l'eau de conduite par une solution minérale. Les auteurs américains se servent souvent du milieu d'Ashby (1):

Eau distillée	1000 cm. c.
Mannite	20 gr.
Phosphate bipotassique .	0,2 „
Phosphate de magnésie .	0,2 „
Chlorure de sodium . . .	0,2 „
Sulfate de calcium . . .	0,2 „
Carbonate de calcium . .	5 „

Nous citerons plus bas les données détaillées concernant l'influence des parties composantes minérales du milieu sur le développement de l'*Azotobacter* et la fixation de l'azote. Nous (Omeliansky et Severova) avons obtenu de bons résultats, en ce qui concerne l'accumulation de l'*Azotobacter*, dans des milieux contenant 2% de dextrose, de glycérine et de malate de calcium.

On considère les milieux qui servent à l'isolement de l'*Azotobacter*, comme des milieux sans azote, car on n'ajoute pas à ces milieux de combinaisons d'azote. Mais on ne peut pourtant les considérer comme tels, à l'exception des cas où l'on prend des précautions pour éliminer du milieu les traces des combinaisons azotées qu'il contient. Beijerinck (1) affirme que les quantités insignifiantes de matières qui se trouvent dans l'eau et dans la terre dont on se sert pour l'ensemencement, sont nécessaires pour le développement de

1) Suivant Gerlach et Vogel (2), le saccharose ne convient pas comme source d'énergie à l'*Azotobacter*

2) Il en est de même en ce qui concerne l'addition de petites quantités de terre. Ainsi que l'ont montré Beijerinck et Van-Delden (2), dans ce milieu dans beaucoup de cas le développement de l'*Azotobacter* est meilleur, mais un phénomène inverse est aussi possible. Suivant les expériences de Schulze (Centr. f. Bact. 2 Abt. t. 19, p. 341, 1907), à la stérilisation de la terre, surtout de la terre des prairies, il se forme souvent des substances qui agissent d'une manière nuisible sur les plantes.

de l'*Azotobacter*: sans ces matières il ne se développe que très faiblement. Mais si la quantité de combinaisons azotées dépasse une certaine limite, les propriétés électives du milieu par rapport à l'*Azotobacter* s'atténuent et différentes espèces banales qui ont besoin de quantités relativement grandes de matières azotées prennent le dessus. Ainsi, suivant les données de Thiele (1), l'addition de 0,001 p. 100 de nitrate de potassium abaisse les propriétés électives du milieu et gêne l'accumulation de *Azotobacter.* Pourtant, dans des cultures pures de cette espèce, de telles quantités insignifiants de combinaisons azotées (de sels d'ammonium, de nitrates, de peptone) accélèrent le développement de l'*Azotobacter.*

L'*Azotobacter* est un organisme très aérophile qui exige pour son développement beaucoup d'air, c'est pourquoi il faut le cultiver sur des couches minces de liquide pour faciliter l'aération des cultures. Si l'accés nécessaire de l'air dans le liquide n'est pas assuré, dans ce cas, surtout dans des milieux contenant du dextrose, les bactéries de la fermentation butyrique prennent le dessus, le liquide commence à fermenter, et l'*Azotobacter* se développe faiblement. Par ce besoin en air s'explique indubitablement le fait que l'*Azotobacter* se développe mieux sur des milieux solides que sur les milieux liquides. Nous versions habituellement dans des fioles de Winogradsky à un diamètre de 12 cm. 100 cm. c. de solution nutritive. L'épaisseur de la couche ne dépasse pas dans ce cas 1 cm.

La meilleure température pour le développement de l'*Azotobacter* est de 25° à 30° C. (Beijerinck (1), Freudenreich (1), Lipman (1), Krzemieniewski (1), Jones (1) et d'autres auteurs). Suivant Krzemieniewski, la température de 33° est manifestement défavorable, à 37° apparaissent des formes d'involution. Le maximum de la température est, suivant Jones, 55° à 60°, le minimum se trouve, près de 0°. A 5° Warmbold (1) a observé un développement à peine visible de l'*Azotobacter.*

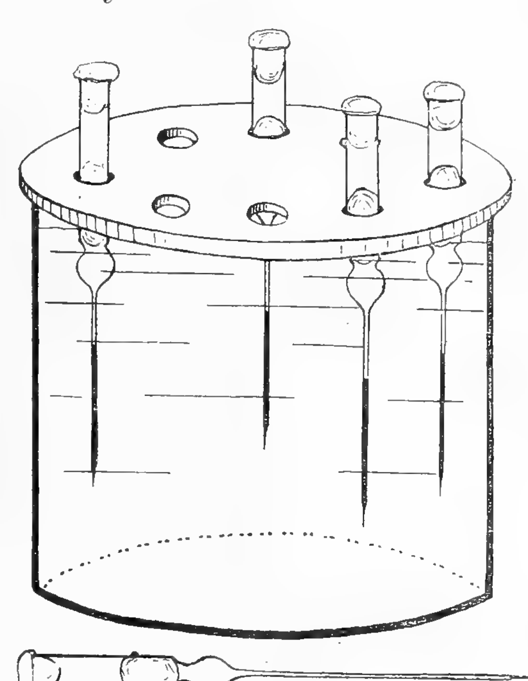


Fig 1. Appareil pour déterminer la température que les bactéries peuvent supporter. En bas: une pipette.

Pour déterminer la température maxima que l'*Azotobacter* peut supporter, nous nous sommes servi de l'appareil suivant. On remplit des courtes pipettes de Pasteur stérilisées et munies de deux tampons d'ouate (fig. 1 en bas) d'une émulsion dense de l'*Azotobacter* jusqu'à l'endroit

élargi (la longueur de la pipette avec le tube capillaire est environ 13 à 14 cm.). La pipette est fermée à feu et chauffée au bain-marie. On essaie habituellement plusieurs pipettes que l'on chauffe durant des intervalles différents. Le bain-marie est réglé à une température déterminée, les pipettes sont placées dans le bain-marie par des trous qui se trouvent dans un carton ordinaire ou d'asbeste qui le couvre. Après des intervalles déterminés, on enlève les pipettes, les transporte dans un verre à eau froide, puis dans un verre avec de l'alcool et enfin avec de l'éther (pour une demi-heure) pour stériliser le tube capillaire de l'exterieur. Ensuite, on brise le tube capillaire avec une pincette stérilisée, on verse le contenu sur la surface d'un milieu nutritif solide (nous nous sommes servi de gélose glucosée) et on l'étale en stries. Les plaques sont placées à l'étuve et on observe le développement des colonies.

Au cours de ces expériences nous avons obtenu les résultats suivants:

Temp.	*Durée du chauffage.*	
40⁰	1 heure	Le développement est le même que sur les plaques de contrôle, c. a. d. ensemencées avec une émulsion non chauffée.
	2 heures	
	4 heures	
45⁰	15 min.	— développement normal.
	30 min.	Il n'y a pas de développement.
	1 heure	
50⁰	15 min.	— développement très faible.
	30 min.	— il n'y a pas de développement.
60⁰	15 min.	— il n'y a pas de développement.

La mort rapide de l'*Azotobacter* à des températures relativement peu élevées (45⁰), peut-on supposer, est une des causes de la teneur plus petite en cette espéce des couches supérieures du sol pendant les mois d'été.

En chauffant ainsi l'émulsion de l'*Azotobacter* à la temp. de 45⁰ à 50⁰ pendant 15 minutes, il était facile d'éliminer les bactéries sans spores qui accompagnent habituellement cette espèce et dont il est difficile à se débarasser par les méthodes ordinaires d'isolement en milieu solide, car les germes de ces microorganismes se trouvent dans la masse visqueuse qui couvre les cellules de l'*Azotobacter*.

Cet appareil pour le chauffage des cultures est très commode pour constater d'une manière exacte comment se comportent différentes bactèries, lorsqu'on les soumet à l'action des hautes températures.

Si l'on observe toutes les conditions citées qui favorisent l'accumulation de l'*Azotobacter* dans la culture, dans ce cas déjà, un ou deux jours après l'ensemencement, apparaît à la surface du liquide un voile très tendre, qui devient peu à peu plus épais et prend l'aspect caractéristique.

Si l'on en fait une préparation, on constate habituellement, à côté de grandes cellules typiques de l'*Azotobacter*, une certaine quantité d'autres espèces. Le plus souvent, ce sont des petites bactéries ne formant pas de spores, mais il y a aussi des infusoires et des amibes. Celles-ci qui se nourrissent, entre autres, de cellules de l'*Azotobacter* se développent parfois en grande quantité. Tout ce monde vivant se contente de traces des matières azotées, contenues dans le milieu, et appartient, selon la terminologie de Beijerinck, à la catégorie d'organismes microaérophiles. Les espèces étrangères, ainsi que l'a constaté encore Beijerinck (1), favorisent le développement du voile; sans elles le voile n'atteint jamais un tel développement abondant. L'analyse biologique de ce mélange présente un grand intérêt par les nombreux problèmes qu'elle soulève et qui qui sont encore à résoudre. En se développant, le voile commence à se rider et s'élève légèrement aux parois de la fiole. Une semaine ou dix jours après l'ensemencement, le voile qui était d'abord blanc ou grisâtre commence peu à peu à devenir foncé et prend parfois une couleur presque noir. Ce caractère n'est pas pourtant constant: il y a des races de l'*Azotobacter* qui ne deviennent pas foncées.

Après plusieurs passages dans les mêmes conditions, lorsqu'on a établi que la composition du mélange bactérial est plus ou moins constant, on se met à l'isolement de l'*Azotobacter* en culture pure. En ce qui concerne la question de l'âge des cultures qui doivent servir de point de départ pour les cultures pures, les opinions des différents auteurs sont différents. Certains auteurs donnent la préference aux cultures fraîches où des zooglaées ne se sont pas encore formées, tandis que les autres, au contraire, affirment que des vieilles cultures conviennent mieux à ce but [Krzemieniewski (1)]. Il est mieux, sans se tenir à une règle générale, de soumettre chaque fois la culture avant l'isolement de l'*Azotobacter*, à une analyse microscopique et de ne faire d'ensemencement en milieux solides qu'au cas, où la culture contient une quantité suffisante de cellules isolées qui ne sont pas réunies dans des zooglaées.

Pour préparer des milieux solides, on se sert de mêmes solutions que pour l'accumulation de l'*Azotobacter*, en ajoutant 1 à 2% de gélose. Certains auteurs [Lipman (1)] ajoutent au milieu encore 0,0005 p. 100 de nitrate de potassium. Beijerinck (1), au contraire, évite l'addition des sels et recommande de préparer le milieu avec de l'eau distillée, la gélose elle-même contenant une quantité suffisante de sels. Suivant Beijerinck (3), le milieu qui convient le mieux est une gélose qui est préparée d'une manière spéciale avec du malate de calcium. Tandis que sur la gélose mannitée ce ne sont au plus que 2% de cellules qui se développent en colonies, sur la gélose avec du malate de calcium il y en a 65 % et plus. Les colonies ont sur ce milieu un aspect caractéristique;

elles sont imprégnées de cristaux de carbonate de calcium qui s'est formé à la suite de la décomposition du sel malique. On voit ce phénomène sur les photographies 10 et 11 qui se trouvent sur la planche à la fin de cet article.

Sur la gélose mannitée de Beijerinck ou d'Ashby à 30° apparaissent, habituellement un ou deux jours après l'ensemencement, des colonies typiques de l'*Azotobacter* sous forme de gouttes convexes, denses et visqueuses, demi-transparentes, rappellant des gouttes d'empois d'amidon et se distinguant fortement des colonies des espèces étrangères. Ces dernières apparaissent, le plus souvent, tantôt sous forme de gouttes acqueuses, transparentes, tantôt sous forme de voiles plats bordés de festons qui s'étalent sur le milieu, tantôt sous forme de petites gouttes avec une fluorescence verte.

Les colonies de l'*Azotobacter* augmentent rapidement de volume, prennent peu à peu une couleur brun foncé, parfois presque noire, rappellant la couleur de la terre noire (tchernozem). Chez les grandes colonies c'est à la périphérie que l'on observe la coloration la plus forte en noir (Phot. 6). Il n'est pas rare que les colonies, d'abord d'une consistance dense visqueuse avec un relief raide, deviennent avec le temps moins visqueuses et se répandent sur la surface du milieu. On observe assez souvent chez elles une structure radiaire-concentrique bien distincte (Phot. 7, 8, et 9). Chez certaines races les colonies sont ridées et ont une consistance plus sèche. Je n'aï jamais observé de colonies jaunes, décrites par certains auteurs. Aux cas, où il y avait une couleur jaune, cela s'éxpliquait par la présence des bactéries produisant des pigments.

Avant de porter la semence d'une colonie sur le milieu nutritif stérile, il est nécessaire de constater par l'analyse microscopique que la colonie de l'*Azotobacter* ne contiennent pas de germes des espèces étrangères, car il arrive, que des colonies typiques (par leur aspect) de l'*Azotobacter* et qui n'ont extérieurement rien de suspect, sont composées d'un mélange de l'*Azotobacter* et d'une autre espèce. Pour contrôler la culture au point de vue de sa pureté, il suffit d'en préparer des nouvelles plaques: on doit obtenir des colonies uniformes de l'*Azotobacter*. Gerlach et Vogel (2) et puis Freudenreich (1), Lipman (1) et d'autres conseillent de contrôler la pureté de la culture par le rensemencement dans le bouillon ordinaire: si la culture est pure, le bouillon reste transparent. On peut pourtant contester l'utilité de ce moyen, car, d'un côté, toutes les espéces qui peuvent accompagner l'*Azotobacter* ne doivent pas nécessairement donner un développement quelque peu sensible dans le bouillon; d'autre côté, l'*Azotobacter* lui-même se développe bien que faiblement dans le bouillon.

Les difficultés qui se présentent à l'isolement de l'*Azotobacter* dé-

pendent, suivant Krzemieniewski (2), des propriétés de la terre qui sert à l'ensemencement. Il a été plus facile de l'obtenir en se servant de la terre provenant des lots du champ d'expériences auxquels on ajoutait auparavant de la chaux. L'isolement de l'*Azotobacter* de la terre non traitée par la chaux était fortement gêné par l'apparition des bactéries irisantes en abondance. Thiele (1) et Pillai (1) signalent aussi les difficultés particulières que l'on rencontre à l'isolement de l'*Azotobacter*.

Le problème de savoir, comment l'*Azotobacter* se comporte dans les milieux employés habituellement en bactériologie a été étudié par des nombreux chercheurs. Citons surtout les travaux de Löhnis et Westermann (1), Lipman (1), Jones (1) et d'autres auteurs.

On ne peut pas affirmer, comme le font certains auteurs, que les cultures de l'*Azotobacter* dans les milieux ordinaires avec de la viande et de la peptone donnent toujours des résultats négatifs. Il se développe relativement mal dans le bouillon ordinaire. Certaines races ne présentent presque pas de développement pendant les premiers jours, ce qui a suggéré l'idée chez Gerlach et Vogel (2) de proposer ce milieu pour le contrôle de la pureté des culture (v. plus haut). Plus tard, pourtant le bouillon se trouble, et on peut constater dans le bouillon une quantité de formes mobiles de l'*Azotobacter* [Löhnis et Westermann (1)], il y a un dépôt au fond. Dans nos expériences la race noire de l'*Azotobacter* (*Azotob.* III isolé de la terre de Petrograd) donne un trouble léger dans ce milieu, tandis que la race blanche (*Azotob.* XI isolé de la terre de Viatka) n'a pas donné de trouble, mais a formé un dépôt floconneux au fond.

Cette différence se manifestait d'une manière encore plus accentuée en culture sur la gélose ordinaire (avec de la viande et de la peptone): la race noire s'y développait bien dans une longue série de générations, tandis que la race blanche n'y a donné qu'un développement assez faible. Dans les deux cas on observait sous le microscope la dégénérescence du microbe: on constatait des produits de désaggrégation, les cellules avaient une forme irrégulière, elles étaient souvent enflées, ne se coloraient pas d'une manière uniforme etc.

Sur la gélose ordinaire additionnée de 1% de dextrose, l'*Azotobacter* donne un développement plus abondant, tout en présentant des signes de dégéneréscence.

L'addition de 6% de glycérine à la gélose a, au contraire, une influence défavorable sur le développement de l'*Azotobacter*.

La gélatine ordinaire présente un milieu encore moins favorable à la culture de notre microbe. A l'ensemencement par piqûre, on observe parfois à la partie supérieure un creux peu profond. Beijerinck a observé une liquéfaction à peine visible de la gélatine. Nous n'avons pas constaté ce phénomène.

Dans le lait il y a un développement sans coagulation. Parfois le lait s'éclaircit légèrement.

Sur la pomme de terre il y a un développement peu abondant sous forme d'un voile incolore, qui devient peu a peu foncé chez la race noire. La race blanche se développe plus faiblement.

Comme milieux excellents pour la culture de l'*Azotobacter* servent la gélose mannitée de Beijerinck (1) et la gélose dextrinée proposée par Omeliansky et Severova (1). Sur ces milieux on peut cultiver l'*Azotobacter* un temps indéfiniment long, sans qu'il manifeste de signes visibles de dégéneresсence. Nous avons observé un développement abondant sur la gélose mannitée additionnée de 0,2 p. 100 de peptone ou de 0,1 p. 100 de nitrate d'ammonium.

Sur certains milieux synthétiques, p. e. sur un milieu lactosé, l'*Azotobacter* produit des formes d'involution curieuses. Elles seront décrites dans l'article suivant.

La gélose de haricots que l'on emploie pour la culture des bactéries des nodosités présente un bon milieu pour le développement de l'*Azotobacter*. Suivant Heinze (2), comme milieu solide pour la culture de l'*Azotobacter* convient le mieux la gélose de malt additionnée de la craie (malte de bière: 1 partie, eau: 3 parties, gélose: 2%).

Le plus grand intérêt au point de vue physiologique et la plus grande importance au point de vue pratique présente l'éclaircissement des conditions de la fixation de l'azote libre par l'*Azotobacter*. Quelles sont les conditions qui garantissent la plus grande productivité de cette espèce non seulement par rapport à la quantité absolue de l'azote fixé, mais aussi par rapport à la quantité de la matière non azotée oxydée? Ce problème de l'économie du travail de l'*Azotobacter* est très important pour l'apprécation de l'activité de cette espèce dans le sol.

Il est nécessaire de faire remarquer à cette place que la technique de la détermination de la grandeur de la fixation de l'azote manque d'uniformité. C'est ainsi, que certains auteurs déterminent la quantité de l'azote fixé après un certain temps, sans prendre en considération la quantité de la matière carbonée décomposée, c. a. d. s'intéressent surtout à la rapidité de la fixation de l'azote. D'autres préfèrent, au contraire, sans prendre en considération le problème du temps, déterminer la grandeur de la fixation de l'azote par rapport à la quantité de la matière carbonée décomposée, c. a. d. s'intéressent surtout à l'économie du travail. C'est à ce deuxième principe que nous nous sommes tenu dans nos expériences.

Dans le tableau I nous avons résumé les données de différents auteurs concernant le maximum de la fixation de l'azote pour 1 gr. de matière carbonée oxydée.

Tableau I.

Auteurs.	Nom de l'espèce de l'*Azotobacter*.	Substance non azotée.	Gain d'azote en mgr. pour 1 gr. de matière non azotée oxydée.	Observations.
Beijerinck и van Delden	Culture mixte	2% de mannite	jusqu'à 8, mgr. 5	En cultures pures il n'y avait pas de fixation.
Gerlach et Vogel	*Az. chrooc.*	0,2% de dextrose	9 mgr.	Dans les expériences isolées la fixation a atteint 10, mgr. 6.
Freudenreich	*Az. chrooc.*	2% de dextrose	1, mgr. 2	Sur les ronds de plâtre jusqu'a 8 mgr.
Warmbold	*Az. chrooc.*	6% de mannite	2, mgr. 5	Sur un milieu gélosé.
Stoklasa	*Az. chrooc.*	2% de mannite 2% de dextrose 2% d'arabinose	6, mgr. 2 7, mgr. 5 9 mgr.	
Löhnis	*Az. chrooc.*	1% de mannite	11, mgr. 5	Milieu avec un extrait de la terre.
Thiele	*Az. chrooc.*	1,5% de mannite	3 mgr.	
Heinze	*Az. chrooc.*	1% de dextrose	10, mgr. 4	En présence de terre stérilisée.
H. Fischer	*Az. chrooc.*	1% de mannite	9 mgr.	
Kraïnsky	*Az. chrooc.*	1% de mannite (d'inuline et de lévulose)	7, mgr. 5	A une couche de liquide très mince.
Krzemieniewski	*Az. chrooc.*	1,5% de dextrose ou de mannite	17 mgr.	En présences de combinaisons humiques.
Hoffmann et Hammer	Culture mixte	1% de mannite	14, mgr. 5	
Kaserer	*Az. chrooc.*	1% de dextrose	12, mgr. 5	
Lipman	*Az. vinelandii*	1,5% de mannite	14 mgr.	
Prazmowski	*Az. chrooc.*	1% de dextrose	11, mgr. 2	En présence de 0,025 p. 100 de peptone.

La différence si considérable des résultats s'explique, d'une part, par les différence en ce qui concerne les conditions des expériences chez différents auteurs, d'autre part, par les particularités des races de l'*Azotobacter*, dont on s'est servi dans les expériences.

Dans la plupart des cas, la grandeur de la fixation de l'azote correspond plus ou moins aux dimensions du voile de l'*Azotobacter* à la surface du liquide. Beijerinck (1) a déjà constaté ce fait. Pourtant c'est à peine qu'il est possible de généraliser ce fait. On a décrit une série de cas, où les cultures se développérent bien et où la fixation de l'azote était pourtant insignifiante. C'est ainsi, que dans les expériences de Löhnis et Westermann (1), l'*Azotobacter* s'est développé très bien dans un milieu contenant 1% de dextrose en formant un voile gras, et la fixation de l'azote était plus faible que dans un milieu mannité, où le développement du microbe n'était pas si abondant. Des faits semblables ont été constatés aussi par Prazmowski (1) qui trouve que ces deux phénomènes (le développement du microbe et la fixation de l'azote) ne se trouvent pas en lien de causalité directe et ne sont pas toujours proportionnels l'un à l'autre.

La durée de la culture retentit, naturellement, aussi sur la grandeur de la fixation jusqu'au moment où toute la matière énergetique est oxydée.. Dans des cultures mixtes, au cas où l'on les garde longtemps, on observe souvent des pertes d'azote qui se produisent à la suite de la décomposition de la matière protéique fixé et du dégagement de l'ammoniaque qui s'est formé. Dans des cultures pures on n'observe pas habituellement de pertes sensibles d'azote. Dans le tableau II nous résumons les résultats de l'expérience faite en but de déterminer l'accumulation graduelle de l'azote dans la culture.

Ainsi qu'il suit de ce tableau, la grandeur de la fixation était au plus de 1 mgr. d'azote pour 1 gr. de mannite décomposée, c. a. d. était peu considérable. Quant à l'accumulation de l'azote, si elle se manifestait encore en très faible degré jusqu'à la fin de l'expérience, on peut considérer que pratiquement elle atteint sa limite au bout d'un intervalle de deux semaines. C'est pour cet intervalle de temps que la plupart des auteurs déterminent la grandeur de la fixation de l'azote par les cultures de l'*Azotobacter*.

Ce sont les matières carbonées contenues dans le milieu nutritif et servant de source d'énergie aux microbes qui ont la plus grande influence sur la fixation de l'azote. On ne constate pas pourtant d'uniformité en ce qui concerne les résultats obtenus, ce qui doit être attribué, sans doute, aux particularités des races du microbe, dont on s'est servi dans les différents expériences.

Comme source ordinaire de nutrition carbonée des microbes on

Tableau II.

Milieu nutritif: Eau de cond.: 80 cm. c.; extrait de lin: 20 cm. c.; mannite: 2 gr.; phosphate de potas.: 0, gr. 02. *Temp.:* 30⁰. *Acide titré:* 20 cm. c. *Le quantité d'azote* en mgr. est obtenue par multiplication de la différence par 0,7. Cultures dans des fioles de Winogradsky avec 100 cm. de milieu nutritif.

Nature des cultures.	Quel jour l'analyse a été faite ?	Titre de l'acide après distillation de l'ammoniaque en cm. c.	Différence.		Gain total d'azote en mgr.	Gain de N en mgr. pour 1 gr. de mannite.	Observations.
			par titrage.	après déduction de l'exp. de contr.			
Contrôle (sans ensemenc.)	Au commenc. de l'expérienc.	17,0	3,0	—	—	—	Correction: 2,9.
		17,2	2,8	—	—	—	
Azotobacter chroococcum, isolé de la terre de Volhynie (*Az.* VII*).	3	16,5	3,5	0,6	0,42	0,21	Il n'y a presque pas de capsules. Sur le champ de vision il y a presque exclusivement des groupes à deux cellules.
		16,6	3,4	0,5	0,35	0,18	
	5	15,7	4,3	1,4	0,98	0,49	On voit distinctement des capsules autour des cellules.
		15,6	4,4	1,5	1,05	0,52	
	10	15,4	4,6	1,7	1,19	0,59	Un voile visqueux abondant à la surface du liquide.
		15,5	4,5	1,6	1,12	0,56	
		15,5	4,5	1,6	1,12	0,56	
	15	15,0	5,0	2,1	1,47	0,73	
		14,8	5,2	2,3	1,61	0,80	
		15,3	4,7	1,8	1,26	0,63	
	20	14,9	5,1	2,2	1,54	0,77	
		14,6	5,4	2,5	1,75	0,87	
		15,1	4,9	2,0	1,40	0,70	
	25	14,5	5,5	2,6	1,82	0,91	
		15,1	4,9	2,0	1,40	0,70	
		14,2	5,8	2,9	2,03	1,01	
Contrôle (sans ensemenc.)	A la fin de l'expérience	17,0	3,0	—	—	—	

*) Les chiffres romains dans ce tableau et dans les tableaux suivants correspondent aux mêmes chiffres dans l'article qui a été publié par moi et M-lle Solounskov (v. ces „Archives" t. XVIII, p. 433). Le lecteur trouvera dans ce travail la description des races correspondantes de l'*Azotobacter.*

prend des hexoses (en partie aussi des pentoses) et des alcools plurivalents. Dans les expériences avec l'*Azotobacter*, on s'est servi, le plus souvent, de la mannite et du dextrose. Suivant Beijerinck et van Delden (2), dans les cultures mixtes le dextrose donne une grandeur de fixation plus élevée que la mannite. Comme il suit du tableau I, dans les cultures pures certains auteurs ont préféré se servir de la mannite, d'autres du dextrose. Suivant Löhnis et Pillai (1), le lévulose, le galactose et l'arabinose peuvent aussi servir comme source de carbone. Ce fait est confirmé par Stoklasa (1), qui emploie aussi, comme source de carbone, le xylose et le mannose. Cet auteur a obtenu le meilleur résultat avec l'arabinose. Suivant Kraïnsky (2), la mannite et le lévulose peuvent servir comme source excellente de carbone; au contraire, l'arabinose et le galactose ont donné dans ses expériences des mauvais résultats.

Suivant Beijerinck (1), des disacharides, le saccharose et le maltose et non pas le lactose, peuvent servir pour la culture de l'*Azotobacter*, tandis que suivant Löhnis et Pillai (1) et Stoklasa (1), le lactose présente une source convenable de carbone.

En ce qui concerne les polysaccharides, des résultats positifs ont été obtenus avec la dextrine[1]) [Löhnis et Pillai (1), Hoffmann et Hammer (1), Lipman, Omeliansky et Severova (1)], l'inuline [Löhnis et Pillai (1), Kraïnsky (2), Hoffmann et Hammer (1)], l'amidon [Gerlach et Vogel (1) et Lipman (1)], le glycogène [Heinze (1)], les produits de décomposition de la cellulose [Heinze (1), Pringsheim (1 et 2) et A. Koch (1)], les furfuroïdes [Stoklasa (2)] et d'autres.

En ce qui concerne les alcools inférieurs, des résultats positifs ont été obtenus par Beijerinck (1) et Lipman (1) avec l'alcool éthylique et la glycérine. Suivant Rahn (1), dans des cultures mixtes des graisses peuvent servir comme matière nutritive à l'*Azotobacter*.

Il a été déjà mentionné plus haut que les sels des acides organiques, en particulier le malate de calcium [Beijerinck (1)] peuvent servir de bonne source de carbone à l'*Azotobacter*.

Dans les expériences de Lipman (1) dans la serie de sels de sodium des acides acétique, propionique, butyrique, la fixation de l'azote augmente, avec le poids moléculaire des acides, mais le membre suivant de la série homologique (l'acide valérianique) présente déjà une mauvaise source de carbone. Avec les sels de sodium des acides succinique et citrique il n'y avait presque pas de fixation d'azote.

1) Dans les expériences de Prazmowsky (1) la dextrine a pourtant donné des résultats négatifs.

Les données citées plus haut montrent que l'*Azotobacter* est un polyphage typique qui peut se servir de différents matières hydrocarbonées, des alcools et des sels des acides organiques.

L'addition graduelle de dextrose, à mesure que la quantité précédente est oxydée, dans une concentration qui ne dépasse pas 2%, comme il suit du tableau III, n'a pas influencé d'une manière favorable l'effet utile de la fixation de l'azote; tandis que dans la première portion du sucre la fixation était de 3, mgr. 3 pour 1 gr. de dextrose, dans la deuxième elle a été de 2,13 et dans la troisième de 1 mgr. 70 c. a. d. deux fois plus petite que dans la première portion. Cet abaissement a été, évidemment, occasionné ou bien par l'accumulation graduelle des produits de décomposition nuisibles dans le liquide, ou bien par le manque de parties composantes minérales dans le milieu.

Tableau III.

Milieu nutrit.: Eau de cond.: 80 cm. c.; extrait de lin: 20 cm. c.; dextrose 2 gr.; phosph. de potas.: 0, gr. 1; sulf. de magn. 0, gr. 05; craie. *Temp.*: 30⁰. *Quantité d'ac. titré:* 20 cm. c. *Quantité d'azote* en mgr. = différence × 0,7. Cultures dans des fioles de Winogradsky avec 100 cm. c. de milieu de nutritif.

Nature des cultures.	Quantité de sucre décomposé.	Durée de l'expérience en jours.	Titre de l'acide après distillation de l'ammoniaque en cm. c.	Différence en cm. c. par titrage.	Différence en cm. c. après déduction de l'exp. de contr.	Gain total d'azote en mgr.	Gain de N en mgr. pour 1 gr. de dextrose décomposé.	Observations.
Contrôle	0	—	17,0	3,0	—	—	—	Correction = 3 cm. c.
	0	—	17,0	3,0	—	—	—	
Azotobact. VII + *Cl. Past.* IV (les deux microorg. prov. de la terre de Volhynie)	2 gr.	15	7,9	12,1	9,1	6,37	3,18	En moyen 3,39.
	2 gr.	15	6,7	13,3	10,3	7,21	3,60	
	4 gr.	25	4,8	15,2	12,2	8,54	2,13	2,13.
	6 gr.	35	3,8	16,2	13,2	9,24	1,54	En moyen 1,70.
	6 gr.	35	1,1	18,9	15,9	11,13	1,85	

*) Le sucre a été additionné en quantité de 2 gr., lorsque la portion précédente était décomposée, la concentration ne dépassait pas ainsi 2%.

Dans le tableau IV sont résumés les résultats des expériences comparatives de la fixation de l'azote en présence de différentes sources de

Tableau IV.

Mil. nutrit.: Ean de cond.: 80 cm. c.; extrait de lin.: 20 cm. c.; phosph. de potas.: 0, gr. 02; substances indiquées ci desous en quantité de 1 gr. chacune. *Durée de l'exp.:* 33 jours. *Temp.:* 30°. *Quant. d'ac. titré:* 20 cm. c. *Quantité d'azote* en mgr. = la différence × 0,7. Cultures dans des fioles de Winogradsky avec 100 cm. c. de milieu nutrit.

Nature des cultures.	Substance non azotée.	Titre de l'acide après distillation de l'ammoniaque en cm. c.	Différence en cm. c.		Gain de N en mgr. pour 1 gr. de substance décomposée.	Observations.
			par titrage.	après déduction de l'exp. de contrôle.		
Contrôle	1 % de mannite	17,0	3,0	—	—	Correction: 3 cm. c.
		17,0	3,0	—	—	
Azotob. VII. (de la terre de Volуynie)		11,8	8,2	5,2	3,64	
		11,9	8,1	5,1	3,57	
Contrôle	1 % de dextrose	16,7	3,3	—	—	Correction: 3, cm. c. 2
		16,9	3,1	—	—	
Azotob. VII.		13,8	6,2	3,0	2,10	Il reste du sucre non décomposé.
		13,4	6,6	3,4	2,38	
Contrôle	1 % de glycérine	17,0	3,0	—	—	Correction: 3 cm. c.
		17,0	3,0	—	—	
Azotob. VII.		16,9	3,1	0,1	0	
		16,8	3,2	0,2	0	
Contrôle	1 % d'alcool éthyl. *)	17,0	3,0	—	—	Correction: 3 cm. c.
		17,0	3,0	—	—	
Azotob. VII.		14,7	5,3	2,3	1,61	
		14,2	5,8	2,8	1,96	
Contrôle	Toutes les substances en quantité de 0,25 p. 100 chacune	17,0	3,0	—	—	Correction: 3 cm. c.
Azotob. VII.		14,4	5,6	2,6	1,82	Moyen arithmét. de 4 exp. précéd. = 1,91

*) On ajoutait de l'alcool après stélisation au liquide refroidi.

carbone: de la mannite, du dextrose, de la glycérine, de l'alcool éthylique et d'un mélange de toutes ces substances.

Toutes ces matières ne conviennent pas de la même manière comme source d'énergie: les meilleurs résultats, en ce qui concerne la fixation de l'azote, ont été obtenus avec la mannite (3 mgr. 6), puis viennent le dextrose (2,24), et l'alcool éthylique (1,79). En présence de la glycérine il n'y avait pas de fixation d'azote. Dans l'expérience avec le mélange de ces quatre substances la quantité d'azote obtenue correspondait approximativement au moyen arithmétique.

Le résultat avec la glycérine etait quelque peu inattendu, vu le fait que la glycérine, comme il a été dit, peut servir de source de carbone à l'*Azotobacter*, c'est pourquoi cette expérience a été répétée (tabl. V).

Tableau V.

Milieu nutr.: mannite ou glycér.: 2 gr., phosph. de potas. 0, gr. 02, eau de cond.: 100 cm. c. *Durée de l'expér.:* 50 jours. *Tempér.:* 30°. *Quant. d'ac. titr.:* 20 cm. c. *Quantité d'azote* en mgr. = différence × 0,714. Cultures dans des fioles de Winogradsky avec 100 cm. c.

Nature des cultures.	Substance non azotée.	Titre de l'acide après distillation de l'ammoniaque en cm. c.	Différence en cm. c. par titrage.	Différence en cm. c. après deduction de l'exp. de contr.	Gain total d'azote en mgr.	Gain de N en mgr. pour 1 gr. d'alcool décomposé.	Observations.
Contrôle	2% de glycérine	19,0	1,0	—	—	—	Correction: 1 cm. c.
		18,9	1,1	—	—	—	
*Azotob. IV**)		17,4	2,6	1,6	1,14	0,57	Le développement est plus faible que dans le milieu mannité.
		17,3	2,7	1,7	1,21	0,60	
		17,2	2,8	1,8	1,29	0,64	
Contrôle	2% de mannite	19,0	1,0	—	—	—	Correction: 1 cm. c.
		19,0	1,0	—	—	—	
Azotob. IV		14,7	5,3	4,3	3,07	1,53	Développement abondant de l'*Azotobacter*.
		14,6	5,4	4,4	3,14	1,57	
		14,7	5,3	4,3	3,07	1,53	

*) De la terre du jardin de l'Institut.

Tableau VI.

Milieu nutrit.: Eau de cond.: 80 cm. c., extrait de lin: 20 cm. c., phosph. de potas.: 0, gr. 1, sulf. de magn.: 0, gr. 05, craie et les mat. hydroc. indiquées ci-dessous. *Durée de l'expér.:* 30 jours. *Quant. d'ac. titré:* 20 cm. c. *Quant. d'azote* en mgr. = différ × 0,7. Cultures dans des fioles de Winogradsky avec 100 cm. c.

Nature des cultures.	Matière hydrocarbonée.	Titre de l'acide après distillation de l'ammoniaque en cm. c.	Différence en cm. c.		Gain de N en mgr. pour 1 gr. de matière décomposée.	Observations.
			par titrage.	après déduction de l'exp. de contr.		
Contrôle	1% d'amidon de froment	15,3	4,7	—	—	Correction: 4, cm. c. 6.
		15,4	4,6	—	—	
Azotobact. VII.		12,8	7,2	2,6	1,82	Dans les fioles ensemencées avec l'*Azotobacter* et le *Clostridium Pasteurianum*, la teneur en azote a été déterminée 17 jours après l'ensemencement, dans celles avec l'*Azotobacter* seul 22 jours après l'ensemencement.
		12,5	7,5	2,9	2,03	
Azotob. VII + Cl. Past. IV.		10,3	9,7	5,1	3,57	
Contrôle	1% d'amidon soluble	16,4	3,6	—	—	
		16,0	4,0	—	—	
Azotobact. VII.		13,2	6,8	3,0	2,10	
		14,4	5,6	1,8	1,26	
Azotob. VII + Cl. Past. IV.		13,0	7,0	3,2	2,24	
		11,0	9,0	5,2	3,64	
Contrôle	1% de dextrine	16,1	3,9	—	—	
		15,9	4,1	—	—	
Azotobact. VII.		13,8	6,2	2,2	1,54	
		14,2	5,8	1,8	1,26	
Azotob. VII + Cl. Past. IV.		10,6	9,4	5,4	3,78	
		12,5	7,5	3,5	2,45	
Contrôle	1% de maltose	15,1	4,9	—	—	
		15,3	4,7	—	—	
Azotobact. VII.		13,8	6,2	1,4	0,98	
		13,8	6,2	1,4	0,98	
Azotob. VII + Cl. Past. IV.		13,5	6,5	1,7	1,19	
		12,6	7,4	2,6	1,82	
Contrôle	1% de dextrose	15,4	4,6	—	—	
		15,7	4,3	—	—	
Azotobact. VII.		13,6	6,4	1,9	1,33	
		13,8	6,2	1,7	1,19	
Azotob. VII + Cl. Past. IV.		13,2	6,8	2,3	1,61	
		13,1	6,9	2,4	1,68	

Bien que cette fois aussi la mannite ait donné un meilleur résultat que la glycérine, dans les cultures avec cette substance il y avait aussi une fixation peu considérable d'azote (trois fois plus faible que dans les cultures avec la mannite). La fixation de l'azote dans le milieu mannité a été cette fois deux fois plus petite que dans l'expérience précédente. Cette différence est due peut être au fait que l'on s'est servi: 1) d'une autre race de l'*Azotobacter* ou 2) d'une plus grande concentration de mannite.

Dans le tableau VI sont résumées les données se rapportant à l'amidon de froment et aux produits de l'hydrolyse graduelle de cette substance (amidon soluble, dextrine, maltose et dextrose). Une partie de fioles dans chaque série d'expériences a été ensemencée avec l'*Azotobacter VII*, l'autre avec un mélange de cette race et de *Cl. Past. IV.*

Malgré le fait que les fioles ensemencées avec le mélange de microbes furent analysés, au point de vue de la teneur en azote, 5 jours plus tôt,

Tableau VII.

Milieu nutrit.: (amidon de froment: 1 gr., phosph. de potas.: 0, gr. 02, eau de cond.: 100 cm. c.) a été bouilli pendant le temps indiqué sur le tableau avec de l'acide chlorhydr. (5 cm. c. pour 100 cm. c. de liquide), après quoi on ajoutait 2 gr. de craie. *Durée de l'expér.:* 21 jours. *Temp.:* 30⁰. *Quant. d'acide titré:* 20 cm. c. *Quantité d'azote* en mgr. = différ. × 0,7. Cultures dans des fioles de Winogradsky avec 100 cm. c.

Nature des cultures.	Interv. pendant lequel on a fait bouillir avec HCl.	Titre de l'acide après distillation de l'ammoniaque en cm. c.	Différence en cm. c.: par titrage.	Différence en cm. c.: après déduction de l'exp. de contr.	Gain total d'azote en mgr.	Observations.
Contrôle	15′	18,0	2,0	—	—	Correction: 2 cm. c.
Azotobact. VII.	„	16,0	4,0	2,0	1,40	
Contrôle	30′	18,0	2,0	—	—	Correction: 2 cm. c.
Azotobact. VII.	„	16,4	3,6	1,6	1,12	
Contrôle	45′	18,1	1,9	—	—	Correction: 1, cm. c. 9.
Azotobact. VII.	„	16,3	3,7	1,8	1,26	
Contrôle	60′	18,2	1,8	—	—	Correction: 1, cm. c. 8.
Azotobact. VII.	„	16,3	3,7	1,9	1,33	

il y avait beaucoup plus d'azote que dans les fioles ensemencées avec l'*Azotobacter* seul. Il est difficile de faire des conclusions en ce qui concerne la valeur énergetique de différentes matières hydrocarbonées essayées, car il y avait des oscillations dans le fioles de la même série d'expériences. Nous avons obtenu approximativement les mêmes résultats avec les deux amidons et la dextrine, des résultats moins bons avec le dextrose et considérablement moins bons avec le maltose.

Pour compléter la série précedente d'expériences, citons les données du tableau VII, où sont résumées les expériences concernant les produits d'hydrolyse de l'amidon de froment par l'acide chlorhydrique.

Tableau VIII.

Milieu nutrit.: Eau de cond.: 100 cm. c.; phosph. de potas.: 0, gr. 02; gélose: 2 gr.; dextrine: 1 gr.; *durée de l'expér.:* 6 jours; *Tempér.:* 30⁰; *Quant. d'acide titré:* 20 cm. c.; *Quantité d'azote* en mgr. = différence × 0,7. Cultures dans des boîtes de Petri de diam. de 15 cm. avec 50 cm. c. de mil. nutr.

Sorte de dextrine.	Nature des cultures.	Titre de l'acide après distillation de l'ammoniaque en cm. c.	Différence en cm. c.		Gain d'azote en mgr.	Gain d'azote en mgr. pour 1 gr. de dextrine oxydée.	Observations.
			par titrage.	après déduction de l'exp. de contr.			
Dextrinum purissimum (Kahlbaum).	Contrôle	17,7	2,3	—	—	—	Correction: 2, cm. c. 3.
		17,8	2,2	—	—	—	
	Azotob. VII.	15,4	4,6	2,3	1,61	3,22	
		15,7	4,3	2,0	1,40	2,80	
Dextrinum purissimum (Stoll et Schmitt).	Contrôle	17,5	2,5	—	—	—	Correction: 2, cm. c. 5.
		17,6	2,4	—	—	—	
	Azotob. VII.	15,8	4,2	1,7	1,19	2,38	
		15,8	4,2	1,7	1,19	2,38	
Dextrinum album (Stoll et Schmitt).	Contrôle	17,2	2,8	—	—	—	Correction: 2, cm. c. 9.
		17,3	2,9	—	—	—	
	Azotob. VII.	14,6	5,4	2,5	1,75	3,50	
		14,5	5,5	2,6	1,82	3,64	
Dextrinum flavum (Stoll et Schmitt).	Contrôle	17,1	2,9	—	—	—	Correction: 2, cm. c. 9.
		17,1	2,9	—	—	—	
	Azotob. VII.	16,1	3,9	1,0	0,70	1,40	
		15,6	4,4	1,5	1,05	2,10	

Nous voyons ainsi qu'à la suite de l'hydrolyse graduelle de l'amidon la valeur énergetique de l'amidon pour l'*Azotobacter* s'abaisse d'abord pour augmenter ensuite. Si l'on prend en considération les données du tableau précédent, on peut expliquer ce fait par la transformation d'abord en maltose (abaissement) et puis en dextrose (augmentation).

Dans le tableau VIII sont résumées les données concernant différentes sortes de dextrine.

Les meilleurs résultats ont été ainsi obtenus avec le Dextrinum album (de la maison Stoll et Schmit) et le Dextrinum purissimum (de Kahlbaum).

Dans l'expérience avec le malate de calcium la fixation a été un peu plus élevée qu'avec la mannite, (tabl. IX).

Tableau IX.

Mil. nutrit.: mannite (ou malate de calcium): 1 gr.; phosph. de potas., sulf. de magn., chlorure de sod. et craie: 0, gr. 05 de chaque subst.; sulfate de mangan. et de fer.: traces (0, gr. 001); *Durée de l'expér.:* 25 jours; *Temp.:* 30°; *Quant. d'ac. titré:* 20 cm. c.; *Quant. d'azote* en mgr. = différ. $\times$ 0,7. Cult. dans des fioles de Winogradsky avec 100 cm. c.

Milieu.	Nature dès cultures.	Titre de l'acide après distillation de l'ammoniaque en cm. c.	Différence en cm. c. — par titrage.	Différence en cm. c. — après déduction de l'exp. de contr.	Gain d'azote en mgr. pour 1 gr. de matière non azotée décompos.	Observations.
Avec de la mannite	Contrôle	19,3	0,7	—	—	Correction = 0, c. cm. 6.
		19,4	0,6	—	—	
	*Azotobact. VI**)	17,6	2,4	1,8	1,26	Il est resté beaucoup de mannite non décomposée.
		17,2	2,8	2,2	1,54	
		17,4	2,6	2,0	1,40	
Avec du malate de calcium.	Contrôle	19,2	0,8	—	—	Correction = 0, cm. c. 8.
		19,2	0,8	—	—	
	Azotobact. VI	16,9	3,1	2,3	1,61	
		16,6	3,4	2,6	1,82	
		16,6	3,4	2,6	1,82	

*) Isolé de la terre de Volhynie.

Au commencement de cet article il a été déjà mentionné que l'addition de la terre a, dans la plupart des cas, une influence favorable sur le développement de l'*Azotobacter*. L'addition de la terre à la solution nutritive agit de la même manière sur la fixation de l'azote. C'est ainsi que, suivant les données de Lipman (2), dans une solution de mannite en présence de la terre la fixation de l'azote atteint 5 mgr. d'azote pour 1 gr. de mannite oxydée. Krzemieniewski (2) a aussi constaté ce fait. Nous n'avons fait qu'une expérience dans cette direction (tableau X).

Tableau X.

Mil. nutrit.: Dextrine: 1 gr.; phosph. de potas.: 0, gr. 02; eau de cond.: 100. *Durée de l'expér.*: 20 jours. *Temp.*: 30°. *Quant. d'ac. titré*: 20 cm. c. *Quant. d'azote* en mgr. = différ. × 0,7. Cultures dans des fioles de Winogradsky avec 100 cm. c. de mil. nutr.

Nature des cultures.	Quantité de terre additionnée en gr.	Titre de l'acide après distillation de l'ammoniaque en cm. c.	Différence en cm. c.		Gain total d'azote en mgr.	Observations.
			par titrage.	après déduction de l'exp. de contr.		
Contrôle	0	18,9	1,1	—	—	Correction: 1 cm. c.
	0	19,1	0,9	—	—	
Azotobacter VII	0	17,3	2,7	1,7	1,19	
	0	19,1	0,9	0	0	Il n'y avait pas de développement.
Contrôle	5 gr.	9,1	10,9	—	—	Correction: 11 cm. c.
	„	8,9	11,1	—	—	
Azotobacter VII	„	6,2	13,8	2,8	1,96	
	„	7,1	12,9	1,9	1,33	

L'addition de 5% de terre a en une influence favorable sur la fixation de l'azote et sur le développement de l'*Azotobacter* (sans terre dans une fiole il n'y avait pas de développement), bien que pas au même degré que chez les autres auteurs. Peut être, cela s'explique par les propriétés de la terre ajoutée et par sa quantité excessive.

En quoi consiste donc la cause de l'influence favorable de l'addition de la terre sur le développement et l'activité de l'*Azotobacter*? Pillai (1) et Krzemieniewski (2) ont montré que l'extrait de terre n'a pas une telle influence. On a eu l'idée de chercher la cause dans les sub-

stances humiques qui se trouvent dans la terre. Et, en effet, ainsi que l'ont montré les expériences de Krzemieniewski, l'addition à la solution nutritive de sels des bases alcalines ou des sels des bases alcalines terreuses de l'acide humique a eu sur le développement de l'*Azotobacter* et sur la fixation de l'azote une influence aussi favorable que l'addition de terre. Suivant Prazmowski (1), l'action de l'humate de sodium en présence du carbonate de calcium ou de magnésium est particulièrement favorable. Les opinions différent en ce qui concerne l'humus artificiel préparé du sucre. Dans les expériences de Krzemieniewski il n'a pu servir comme source de carbone, tandis que Prazmowski a obtenu des résultats positifs, surtout en présence des matières minérales colloïdales, comme les silicates de sodium et de potassium, l'hydrate ferrique etc. Les savants cités expliquent aussi différemment l'action des combinaisons humiques. Krzemieniewski reconnaissant avec Pillai (1) que les substances humiques ne peuvent servir à l'*Azotobacter* ni de sources de carbone ni de source d'azote, a émis l'opinion que leur action s'explique par les matières minérales qu'elles contiennent. Cela a semblé d'autant plus probable que l'action de l'humus traité par l'acide chlorhydrique est considérablement moins favorable. Le point de vue de Krzemieniewski est partagé, dans ses traits généraux, par Kaserer (1) et Remy et Rösing (1). Pourtant, il suit des expériences de M-me Krzemieniewski (1) que les matières minérales qui se trouvent dans les substances humiques ne jouent qu'un rôle peu considérable dans la nutrition minérale de l'*Azotobacter.* Le secret de leur influence se trouve, par conséquent, quelque part ailleurs. Prazmowski (1) suppose que c'est exclusivement à leur nature colloïdale qu'il faut attribuer le rôle qu'elles jouent dans la nutrition de l'*Azotobacter.* Ces sont les matières colloïdales azotées qui sont particulièrement importantes. Dans ses expériences les colloïdes organiques, comme la gélose, combinées avec des matières colloïdales minérales ont agi sur la fixation de l'azote aussi favorablement que les combinaisons humiques naturelles de la terre avec leur teneur élevée en silicates solubles et en oxyde de fer. C'est donc à cause de cela que Prazmowski désigne cette combinaison artificielle des colloïdes organiques et minéraux comme des „humates artificieles“. Nous trouvons le développement de la conception de Prazmowski dans le travail récent de Söhngen (1). Cet auteur suppose que les matières colloïdales ajoutées à la solution nutritive, comme l'acide silicique, l'oxyde de fer et d'alumine etc. concentrent sur leur surface les gaz nécessaires pour le travail chimique de l'*Azotobacter* (azote, oxygéne), et favorisent ainsi l'activité et le développement de cette espèce, en augmentant la fixation de l'azote de 5 fois. Des bandes de papier à filtrer plongées à moitié dans la solution nutritive ont agi dans les

expériences de Söhngen aussi bien que les matières colloïdales citées plus haut. De même que Prazmowski, Söhngen suppose que l'addition de la terre favorise la fixation de l'azote grâce à la teneur élevée de la terre en différentes matières colloïdales.

Les matières pectiques qui se trouvent dans la terre dans les restes des plantes favorisent, suivant Heinze (1), le développement de l'*Azotobacter*, et probablement aussi la fixation de l'azote. Dans ce cas agit, certainement, aussi la nature colloïdale de ces substances.

J'ai peu d'observations personnelles en ce qui concerne l'action des matières colloïdales sur l'*Azotobacter*. Dans mes expériences ont agi d'une manière favorable l'oxyde de fer et l'acide silicique soluble (hydrosol).

Vu le fait que le gain d'azote sous l'influence de l'*Azotobacter* dépend directement de la teneur de la solution en matière carbonnée qui sert de source d'énergie, il était naturel de supposer que plus la solution contient de substances carbonées, plus la fixation de l'azote est forte. Mais en effet, si avec l'augmentation de la concentration de la matière non azotée le gain d'azote augmente, la productivité du travail de l'*Azotobacter* s'abaisse, c. a. d. il y a moins d'azote fixé pour 1 gr. de matière carbonée oxydée.

Les expériences de Beijerinck et van Delden (2), ainsi que celles de Gerlach et Vogel (2) ont montré que dans les limites de 0,1 à 1,2 p. 100 la concentration de dextrose n'a pas d'influence sensible sur la fixation, tandis qu'à partir de 1,5 p. 100 celle-ci s'abaisse. Des vieilles cultures à une activité atténuée sont particulièrement sensibles à la concentration. Dans une expérience de Krzemieniewski (2) aux teneurs en dextrose de 0,25, 0,5, 1 et 1,5 p. 100 correspondent les gains suivants d'azote pour 1 gr. de sucre oxydé: 9.92, 7.53, 6.44 et 4.63. L'analyse a été faite le 13ième jour; dans la fiole avec 1% de dextrose il a été trouvé des traces de sucre, dans la dernière fiole des quantités considérables.

Hoffmann et Hammer (1) ont observé un abaissement semblable de l'effet utile par rapport à la mannite. Aux concentrations de mannite de 0,5, 1 et 5% correspondent les grandeurs de fixation pour 1 gr. de mannite oxydé: 11.4, 8.2 et 7, mgr. 45. Dans les expériences de Lipmann (1), qui a travaillé avec des concentrations de mannite de 0.1, 0.2, 0.5, 1 et 1.5 p. 100, les chiffres correspondants de la fixation de l'azote pour 1 gr. de mannite oxydée étaient: 10.5, 8.3, 6.4, 4.68 et 3, mgr. 22. Vu le fait que tous ces résultats coïncident, il faut considérer comme douteuse la conclusion de Warmbold (1), suivant laquelle la concentration de 6%, qui dépasse de beaucoup la concentration optima trouvée par les auteurs cités plus haut pour l'*Azotobacter*, est la concentration qui convient le mieux à la fixation de l'azote par cette espèce.

Personnellement je n'ai fait qu'une expérience (tabl. XI) concernant l'influence de la concentration de la matière hydrocarbonée sur la fixation de l'azote; dans cette expérience dans une série de fioles 2 gr. de dextrose ont été ajoutés par des doses de 0, gr. 5 (à mesure que la dose précédente était consommée), dans l'autre par des doses de 1 gr. et enfin dans la troisième on a ajouté 2 gr. de dextrose dès le commencement de l'expérience. L'analyse a été faite le 22ième—25ième jour, lorsque la dernière portion du sucre a été décomposée.

Tableau XI.

Milieu nutrit.: Eau de cond.: 80 cm. c.; extrait de lin: 20 cm. c.; phosph. de potas.: 0, gr. 1; sulf. de magn.: 0, gr. 05; dextrose: quantités indiquées dans le tableau. *Temper.:* 30°. *Quant. d'ac. titr.:* 20 cm. c. *Quant. d'azote* = différence × 0,7. Cultures dans des fioles de Winogradsky avec 100 cm. c. de mil. nutrit.

Addition de dextrose.	Nature des cultures.	Titre de l'acide après distillation de l'ammoniaque en cm. c.	Différence en cm. c. par titrage.	Différence en cm. c. après déduction de l'exp. de contr.	Gain total d'azote en mgr.	Gain d'azote en mgr. pour 1 gr. de dextrose décomposé.	Observations.
2 gr. de dextrose ont été ajoutés en 4 fois, 0, gr. 5 chaque fois (le jour de l'ensemencem., le 7*), 12 et le 17ième jour).	Contrôle	16,5	3,5	—	—	—	Correction: 3, cm. c. 5.
	Azotob. VII + + *Cl. Past. IV*	11,1	8,9	5,4	3,78	1,89	
		10,8	9,2	5,7	3,99	1,99	
2 gr. de dextrose ont été ajoutés en 2 fois, 1 gr. chaque fois (le jour de l'ensemenc. et le 8ième jour *).	Contrôle	16,0	4,0	—	—	—	Correction: 4 cm. c.
	Azotob. VII + + *Cl. Past. IV*	11,2	8,8	4,8	3,36	1,68	
		11,5	8,5	4,5	3,15	1,57	
2 gr. de dextrose.	Contrôle	15,6	4,4	—	—	—	Correction: 4, cm. c. 4.
	Azotob. VII + + *Cl. Past. IV*	11,4	8,6	4,2	2,94	1,47	
		11,6	8,4	4,0	2,80	1,40	

*) Les nouvelles portions de dextrose ont été ajoutées après la décomposition complète des précédentes.

Si la différence n'a pas été considérable, elle était tout de même bien nette: avec l'augmentation de la concentration du sucre la productivité du travail de l'*Azotobacter* s'abaissait.

En nous basant sur toutes les données citées, nous pouvons établir la règle générale, suivant laquelle la matière carbonée est dépensée dans le processus de la fixation de l'azote de la manière la productive dans des concentrations faibles. Cette règle a d'autant plus d'importance que dans les couches supérieures du sol nous avons justement affaire à des solutions très diluées qui favorisent le plus l'utilisation productive de la matière énergétique.

Beijerinck (1) a déjà constaté que le développement de l'*Azotobacter* est bien facilité par l'addition de petites quantités de combinaisons azotées ou par les traces de ces combinaisons qui se trouvent dans les solutions nutritives. En présence du salpêtre, qui est une bonne source d'azote pour l'*Azotobacter*, le microbe n'a pas besoin de fixer l'azote libre, c'est pourquoi la fixation de l'azote s'abaisse avec l'augmentation de la teneur du milieu nutritif en nitrates. Dans les expériences de Lipman (1), dans une solution mannitée contenant 10 mgr. de nitrate de potassium l'*Azotobacter Vinelandii* a fixé 10, mgr. 35 de N et seulement 5, mgr. 91 en présence de 50 mgr. de nitrate. Des résultats analogues ont été obtenus auparavant par Gerlach et Vogel (2) avec l'*Azotobacter chroococcum*; suivant ces auteurs, des traces de salpêtre n'influencent pas la grandeur de la fixation. Lipman, ayant constaté que des grandes quantités de papier à filtrer agissent d'une manière nuisible sur la fixation de l'azote, a émis la supposition que la cause de ce phénomène se trouve dans les petites quantités de matières azotées renfermées dans le papier.

Suivant Kraïnsky (2), l'addition de 5 mgr. de sulfate d'ammonium pour 1 gr. de dextrose supprime déjà le pouvoir de l'*Azotobacter* d'assimiler l'azote libre, le microbe se développe pourtant bien et forme un voile normal. Lipman (2) a observé même des pertes d'azote à la suite de l'addition au milieu de sels ammoniacaux, probablement grâce au dégagement de l'ammoniaque.

Des observations analogues ont été faites aussi par rapport à la peptone. Suivant Prazmowski (1), l'addition de 0,02 à 0,025 p. 100 de peptone à une solution de dextrose de 1,5 p. 100 n'influence pas sensiblement la grandeur de la fixation de l'azote. Mais des quantités plus grandes gênent déja la fixation de l'azote. Ainsi chez Lipman sans peptone la fixation a été de 15 mgr. d'azote, et en présence de 0, mgr. 5 de peptone elle a diminué de 3 fois.

Je n'ai pas fait d'expériences systématiques pour vérifier les résultats obtenus avec ces substances; le problème me paraissant bien clair, je me suis borné à des observations peu nombreuses. Je ne veux citer ici qu'une expérience qui a un rapport indirect à ce problème. M'ayant proposé de trouver un milieu bien favorable au développement de l'*Azoto-*

bacter et à la fixation de l'azote j'ai essayé, entre autres, différents extraits végétaux. Quelques-uns de ceux-ci, comme l'infusion de foin ou l'extrait de feuilles séches ne conviennent pas du tout à l'*Azotobacter*. Au contraire, l'extrait de lin a agi d'une manière favorable sur le développement et le travail chimique de cette espèce[1]).

Les résultats de ces expériences sont résumées dans le tableau XII.

Sous l'influence de l'*Azotobacter* seul, ainsi que dans des cultures mixtes avec *Clostridium Pasteurianum*, la fixation de l'azote augmentait en présence de l'extrait de lin; le résultat a été meilleur avec l'extrait dilué (50%) qu'avec l'extrait non dilué. Les chiffres de contrôle montrent que les extraits contiennent des quantités assez considérables d'azote, le résultat peut, par conséquent, être attribué, en partie, à l'addition au milieu de matières azotées, mais on doit certainement prendre en considération encore d'autres facteurs (matières colloidales, parties composantes minérales etc.).

Pendant le dernier temps on s'intéressait beaucoup au rôle des parties composantes minérales des milieux nutritifs. Des nombreuses observations bactériologiques montrent que le développement abondant d'une espèce déterminée dépend de la présence dans le milieu des quantités minimes de tel ou tel sel minéral. La loi du minimum qui joue un si grand rôle dans la nutrition des plantes supérieures s'applique aussi pleinement au monde des microbes: le développement et l'activité normale des microbes dépend surtout de la teneur du milieu en la partie composante qui est représentée par la quantité relativement la plus petite. Ainsi pour la fixation de l'azote par l'*Azotobacter* la seule présence de la quantité nécessaire de matières énergetiques n'est pas suffisante, le milieu doit encore contenir des parties composantes minérales sans lesquelles l'activité ne peut pas se manifester d'une manière normale. Quelles sont les matières minérales qui sont nécessaires pour le développement de l'*Azotobacter*?

Il a été déjà indiqué que le premier milieu nutritif proposé pour l'*Azotobacter* était de composition très simple: une solution de 2% de mannite dans de l'eau de conduite additionnée de 0,02 a 0,05 p. 100 de phosphate bipotassique. Dans cette solution, pauvre en matières minérales, l'*Azotobacter* se développait normalement, en formant le voile caractéristique. Dans le travail de Gerlach et Vogel (2) nous trouvons,

1) Les extraits furent préparés toujours d'une manière uniforme. On versait 1 litre d'eau de conduite sur 50 gr. de substance et on gardait le mélange pendant une nuit à frond. Le lendemain on chauffait l'infusion à l'autoclave, on filtrait et on neutralisait par rapport au tournesol. On se servait des extraits tels quels ou on les diluait avec de l'eau.

Tableau XII.

Mil. nutrit.: Dextrose: 2 gr.; phosphate de potas.: 0, gr. 1; sulf. de magn.: 0, gr. 05; chlor. de sod.: traces; craie (la composition du liquide dissolv. est indiqué dans le tabl.). *Durée de l'exp.:* 30 jours. *Tempér.:* 30°. *Quant. d'azote* = différence × 0,7. Cultures dans des fioles de Winogradsky avec 100 cm. c.

Nature des cultures.	Composition du liquide.	Titre de l'acide: avant la distillation de NH_3.	Titre de l'acide: après la distillation de NH_3.	Différence en cm. c.: par titrage.	Différence en cm. c.: après déduction de l'exp. de contr.	Gain total d'azote en mgr.	Gain d'azote en mgr. pour 1 gr. de dextrose décomposé.	Observations.
Contrôle	Eau distillée.	20	18,2	1,8	—	—	—	Correction: 1, cm. c. 7.
Contrôle		20	18,4	1,6	—	—	—	
Azotob. VII		20	16,4	3,6	1,9	1,33	0,66	Il est resté beaucoup de sucre non décomposé.
Azotob. VII + *Cl. Past. IV*		20	14,9	5,1	3,4	2,38	1,19	Le sucre est décomposé.
Azotob. VII + *Cl. Past. IV*		20	15,6	4,4	2,7	1,89	0,94	Il est resté un peu de sucre.
Contrôle	Eau distillée et extrait de lin (parties égales).	20	12,1	7,9	—	—	—	Correction: 7, cm. c. 9.
Contrôle		20	12,1	7,9	—	—	—	
Azotob. VII		20	7,5	12,5	4,6	3,22	1,61	Il est resté beaucoup de sucre non décomposé.
Azotob. VII + *Cl. Past. IV*		20	5,4	14,6	6,7	4,69	2,34	Le sucre est décomposé.
Azotob. VII + *Cl. Past. IV*		20	6,4	13,6	5,7	3,99	1,99	Il est resté un peu de sucre.
Contrôle	Extrait de lin (non dilué).	20	3,9	16,1	—	—	—	Correction: 15, cm. c. 9.
Contrôle		20	4,3	15,7	—	—	—	
Azotob. VII + *Cl. Past. IV*		30	8,0	22,0	6,1	4,27	2,13	Le sucre est décomposé.
Azotob. VII + *Cl. Past. IV*		30	9,2	20,8	4,9	3,43	1,71	

pour la prémière fois, des données détailles concernant le rôle des parties composantes isolées du milieu minéral. Ils sont arrivés à la conclusion que les sels solubles de calcium et les phosphates sont absolument nécessaires. Au contraire, le manque de sels de potassium et de sodium abaisse de trois fois le gain d'azote, mais n'empêche pas le développement normal de l'*Azotobacter*. Si cette conclusion ne présente rien d'innatendu en ce qui concerne le sodium, elle suscite des doutes sérieuses en ce qui concerne le potassium. Vu leur intérêt physiologique, arrêtons nous d'une manière plus détaillée à chacune des thèses citées plus haut.

Le rôle des sels de calcium dans la nutrition de l'*Azotobacter* est confirmé par les recherches de Heinze (1), H. Fischer (1) Schneider (1), S. Krzeminiewski (2), Christensen (1), Remy (1), Hoffmann et Hammer (1), Prazmowski (1) et d'autres auteurs. Il y a déja longtemps, que l'on a constaté que l'*Azotobacter* préfère des terres contenant des sels calciques; il s'y rencontre plus souvent et les races isolées dans ce cas sont très actives. Au contraire, l'*Azotobacter*, isolé des terres ne contenant pas de chaux est peu actif (Krzemieniewski). Suivant Christensen, l'apparition ou l'absence de développement de l'*Azotobacter* dans des cultures électives nous permet même de juger si la terre contient ou non de la chaux [ce problème est traité d'une manière plus détaillée dans mon article (Omeliansky (3)]. Suivant les données de Christensen (1), l'*Azotobacter* peut extraire le calcium nécessaire du phosphate bicalcique, des sels organiques de calcium et du carbonate de calcium. Au contraire, l'*Azotobacter* ne peut pas utiliser le calcium du chlorure, du nitrate, du sulfate de calcium et du phosphate tricalcique [1]). Suivant les expériences de H. Fischer (1), les sels de magnésium ne peuvent pas remplacer dans le milieu les sels de calcium. On a émis la supposition que le calcium joue le rôle de catalyseur dans l'activité chimique de la cellule. Qu'il ne s'agit pas ici de calcium comme d'un aliment direct, il suit des expériences de M-me Krzemieniewski (1), suivant lesquelles 0, mgr. 36 calcium pour 1 gr. de dextrose couvrent complètement le besoin en cet élement. Keding (1) n'est pas d'accord avec Gerlach et Vogel en ce qui concerne l'indispensabilité des sels de calcium. Si l'addition de 0,1 p. 100 de carbonate de calcium favorisait un peu le développément de l'*Azotobacter*, le microbe se développait tout à fait normalement aussi à l'absence de sels de calcium C'est pourquoi Keding suppose que si l'*Azotobacter* a besoin de sels de calcium, ce besoin s'exprime dans des quantités insignifiantes de cet élement: le microbe se contente de traces de calcium qui passent dans la solution du verre ou qui se trouvent dans les parties composantes du milieu.

Il n'y a pas de désaccord en ce qui concerne l'indispensabilité de l'acide phosphorique pour la nutrition de l'*Azotobactcr*. Suivant les expériences de Christensen (1), comme source de phosphore peuvent servir à l'*Azotobacter* les phosphates de bases alcalines et d'ammonium et $CaHPO_4$ et pas $Ca_3(PO_4)_2$; ne conviennent pas non plus les phosphates

1) Pourtant, ainsi que l'ont montré les expériences ultérieures de Christensen (2), ces sels peuvent servir à l'*Azotobacter* de source de calcium à condition de la présence dans la terre des carbonates alcalins qui, en entrant avec les sels calciques en réaction de double échange, les rendent assimilables.

de fer et d'alumine. Suivant Dzierzbicki (1), moins le milieu contient d'acide phosphorique assimilable, d'une manière moins productive l'*Azotobacter* dépense la matière carbonnée pour la fixation de l'azote. Suivant les données de M-me Krzemieniewski, la quantité minime de phosphore que le milieu doit contenir pour 1 gr. de dextrose est de 2, mgr. 46 (si l'on calcule pour P_2O_5, de 5 mgr. 63).

La conclusion de Gerlach et Vogel confirmée par Christensen (1), suivant laquelle les sels de potassium ne sont pas indispensables, a été contesté par differents auteurs. D'après l'opinion de Benecke, la technique employée par ces auteurs ne permet pas de faire cette conclusion inattendue, car les milieux de Gerlach et Vogel peuvent renfermer une quantité de potassium suffisante pour le développement de l'*Azotobacter*. Dans les expériences scrupuleuses de M-me Krzemieniewski (1) l'élimination complète du potassium du milieu nutritif a entraîné la suppression du développement et de la fixation de l'azote. La quantité minime de cet élement dans le milieu pour 1 gr. de dextrose correspond approxivement à celle de Ca et de Mg. (0, mgr. 38 pour K, 0, mgr. 36 pour Ca et 0, mgr. 35 pour Mg). Gerlach et Vogel en vérifiant, à leur tour, les expériences de M-me Krzemieniewski en suivant sa technique, n'ont pu confirmer ses résultats et soutiennent leur conclusion antérieure.

Le problème du rôle des sels de sodium a provoqué une controverse curieuse. Gerlach et Vogel, ainsi que nous l'avons vu, contestent l'indispensabilité de ces sels. D'autres, au contraire, introduisent le chlorure de sodium dans le milieu nutritif [les auteurs americains: Lipman (1), Ashby (1)]. Reinke (1) et Keutner (1), ont observé le meilleur développement de l'*Azotobacter* à une teneur du milieu en NaCl de 3 à 4 %, qui correspond à la concentration du sel marin, ce qui servirait d'indication à l'origine marine de cette espèce qui s'est adaptée dans la suite à la vie dans la terre. Les conclusions de Reinke et Keutner contredisent celles de Lipman et Sharp (1), Thiele (1) et Keding (1) qui considèrent de telles quantités de chlorure de sodium comme absolument défavorable au développement de l'*Azotobacter*. Suivant les données de Lipman et Sharp, déjà à partir d'une concentration de 0,5 à 0,6 p. 100 (calculée pour le poids de terre sèche) le chlorure de sodium gêne le développement de l'*Azotobacter*. Dans les expériences d'Issatchenko (1), à l'infection des milieux avec la mucosité des algues marines ou avec la vase marine l'accumulation de l'*Azotobacter* ne réussissait que dans des solutions avec 3 à 3,5 p. 100 de sel marin. Suivant mes observations personnelles se rapportant à deux races de l'*Azotobacter* isolées de la terre de Petrograd et de Viatka, l'addition au milieu de 3% de NaCl ne favorise pas et ne gêne pas le développement du microbe.

Il existe beaucoup d'indications en ce qui concerne l'action favorable des sels de fer sur le développement de l'*Azotobacter* et la fixation de l'azote. Dans les expériences de Lipman (1), l'*Azotobacter Vinelandii* fixait dans une solution nutritive sans sels de fer 1, mgr. 96 d'azote, tandis qu'en présence d'une quantité insignifiante de chlorure de fer la fixation a augmenté de 7 fois (13 mgr. 33)! Bien que dans les expériences suivantes avec l'*Azot. Beijerincki* Lipman n'ait pas obtenu de résultats aussi démonstratifs ces sels ont eu incontestablement une influence favorable. Au contraire, l'oxyde de fer n'a pas eu d'influence. Dans les expériences de Prazmowski (1) l'hydrate de l'oxyde de fer dans la quantité de 0,017 p. 100 a eu plutôt une influence défavorable sur le développement de l'*Azotobacter*. Krzemieniewski (2) atribuait l'influence de l'addition des substances humiques au matières minérales qui s'y trouvent et parmi lesquelles les sels de fer jouent un grand rôle. Cependant, suivant les données de M-me Krzemieniewski (1), le besoin de l'*Azotobacter* en sels de fer est si minime que l'on n'a pas besoin de les ajouter au milieu; les quantités insignifiantes renfermées dans la semence (si l'on ensemence avec de la terre) ou sous forme de traces dans les parties composantes du milieu suffisent complètement. La conclusion de M-me Krzemieniewski contredit pourtant les constatations qui ont été confirmées par un certain nombre de chercheurs et suivant lesquelles des quantités relativement considérable, de sels de fer ont une influence favorable. C'est ainsi que Kaserer (1 et 2) considère l'absence de sels solubles de fer (et d'alumine) comme une des causes du faible développement de l'*Azotobacter* dans des solutions artificielles par rapport au milieu naturel. C'est pourquoi il propose d'introduire dans le milieu des sels de fer, en recommandant surtout des silicophosphates de fer. Même le sel jaune, additionné dans une quantité insignifiante, favorise le développement de l'*Azotobacter*.

Les recherches détaillées de Remy et Rösing (1) ont conduit ces auteurs à la conclusion que l'influence favorable de la terre et des substances humiques sur la fixation de l'azote par l'*Azotobacter* dépend de leur teneur en oxydes de fer, et en partie, en acide silicique; ils attribuaient au fer le rôle du facteur qui excite le développement („Eisen ist Träger der Reizwirkung“). L'addition de l'hydrate de l'oxyde de fer à la solution nutritive a agi de la même manière que l'addition des substances humiques ou de la terre. L'oxyde de fer dissout dans une solution de saccharose a eu une influence particulièrement favorable. Le fait, que les combinaisons humiques traitées par l'acide chlorhydrique pour l'extraction du fer et de l'acide silicique perdaient presque complètement leur action stimulante sur l'*Azotobacter*, plaidait aussi en faveur du rôle qu'ils attribuaient au fer. Le rôle du fer dans la fixation de

l'azote peut être expliqué par l'hypothèse de Bonnema (1), suivant laquelle le fer transporte l'oxygène de l'air et transforme l'azote libre, en l'oxydant, en acide azotique. Bonnema va encore plus loin en affirmant que les bactéries assimilant l'azote, auxquelles on attribue à tort la propriété de fixer l'azote, se nourrisent seulement de sels de cet acide, mais non pas de l'azote libre.

Prazmowski (1) transporte, ainsi que nous l'avons vu (p. 183), le centre de gravité de la question sur l'état colloïdal des parties composantes du milieu, qui agissent d'une manière indirecte sur le développement et l'activité de l'*Azotobacter*. Suivant cette conception, l'hydrate de l'oxyde de fer agit sur l'*Azotobacter* non pas par sa composition chimique, mais plutôt par sa nature physique, par son état colloïdal. Sous ce rapport, les colloïdes minéraux et organiques se distinguent peu en ce qui concerne leur action. Pour que l'action de ces substances se manifeste, la réaction alcaline que l'on atteint par l'addition de carbonates, phosphates ou silicates des bases alcalines (ou alcalines terreuses), est nécessaire. On obtient un meilleur résultat par la combinaison de l'hydrate colloïdal de l'oxyde de fer avec d'autres colloïdes (organiques ou minéraux).

Dans nos expériences l'addition au milieu mannité de Beijerinck de 0,02 p. 100 de sulfate ferreux ou de chlorure de fer a eu une influence favorable sur le développement de l'*Azotobacter*.

Par rapport à l'aluminium les données de Remy, Rösing et Prazmowski ne concordent pas avec les observations de Kaserer (1). Contrairement à ce dernier, les auteurs cités n'ont pu constater de renforcement de développement à la suite de l'addition des combinaisons d'aluminium, mais au contraire une action retardatrice, surtout dans des fortes concentrations.

En ce qui concerne les sels de manganèse on observe aussi des différences qui sont difficiles à expliquer. Tandis que dans les expériences de Lipman (2) l'addition de 0,001 à 0,01 p. 100 de $MnSO_4$ n'a eu aucune influence sur l'*Azotobacter*, chez Kaserer 0,01% de $MnSO_4$ et chez Stoklasa (1) 0,001 p. 100 de $MnCl_2$ ont favorisé le développement de l'*Azotobacter* et la fixation plus énergique de l'azote. Dans mes expériences, l'addition de 0,002 p. 100 de $MnSO_4$ à la solution mannitée de Beijerinck a eu une influence manifestement retardatrice sur le développement de l'*Azotobacter*.

Il a été déjà indiqué plus haut (p. 165) qu'une bonne aération est indispensable pour les cultures de l'*Azotobacter*, que l'air est nécessaire pour que le microbe se développe normalement et pour que le travail chimique du microbe marche d'une manière normale. Pour bien aérer les cultures, on peut ou bien augmenter la surface libre du liquide par rapport à son

volume (culture en couche mince de liquide ou sur un milieu solide) ou bien faire passer un courant d'air par la solution nutritive. Parfois on cultive aussi à cet effet l'*Azotobacter* sur des milieux poreux, p. e. sur du sable, mais dans ce cas l'excès d'humidité ne doit pas gêner l'aération. Lipman (1) a pris trois fioles d'Erlenmeyer de capacité différente (250, 500 et 1000 cm. c.) et y a versé la même quantité de solution mannitée; après l'infection avec l'*Azotobacter Vinelandii* il a observé que pour la même quantité de mannite oxydée il a été fixé dans le premier cas 1, mgr. 67 d'azote, dans le deuxième cas 3, mgr. 19 et dans le troisième cas 7, mgr. 90. Ces résultats ont été confirmés à l'infection avec *Az. Beijerincki* et *Az. chroococcum.* Dans les expériences de Kraïnsky (2) presque la même quantité d'azote a été assimilé dans 50 et 100 cm. c. de liquide; s'il y avait dans le premier cas deux fois moins de carbone, ce dernier a pu été mieux utilisé grâce aux bonnes conditions d'aération dans une couche mince de liquide.

Pour mieux aérer Prazmowski (1) agitait les cultures deux fois par jour pendant une minute, mais cette opération a eu une influence défavorable sur la fixation de l'azote.

Dans le tableau XIII sont résumées les données concernant la fixation de l'azote dans des quantités différentes de milieu nutritif (fioles de Winogradsky avec des couches de liquide à hauteur différente).

Si la différence n'est pas si prononcée que dans les expériences citées de Lipman, elle est néanmoins bien nette. Il faut ajouter que nous avons accepté pour toutes les cultures la correction trouvée pour 100 cm. c. de liquide de contrôle, ce qui devait abaisser la différence qu'il s'agissait de constater. Si nous avions calculé la correction d'après le volume de liquide, c. a. d. si nous avions accepté 0,7 pour 25 cm. c., 2,9 pour 100 et 5,8 pour 200 cm. c., les grandeurs correspondantes de la fixation auraient été 5,1, 1,5 et 0 mgr. 71. Mais ce calcul n'aurait pas été non plus exact, car dans la correction on doit prendre en considération non seulement l'azote du milieu nutritif, mais aussi l'azote des réactifs, dont le volume était le même dans tous les cas.

L'augmentation de la fixation qui se fait grâce à une bonne aération se manifeste bien dans les cultures sur milieu solide (tabl. XIV).

La grandeur de la fixation, comme nous le voyons, était dans ce cas supérieure à celle dans un milieu liquide (v. tabl. précéd.) et la limite de la fixation a été atteinte déjà le 2ième jour après l'ensemencement. Il faut avoir en vue une telle vitesse de fixation à l'appréciation de l'activité de l'*Azotobacter* dans des terres légères, bien aérées.

Dans des cultures mixtes où se développent en même temps l'*Azotobacter* (microbe aérobie) et le *Clostridium Pasteurianum* (anaérobie) la

Tableau XIII.

Mil. nutrit.: Eau de cond.: 80 cm. c.; extrait de lin: 20 cm. c.; mannite: 2 gr.; phosphate de potas.: 0, gr. 02. *Durée de l'exp.:* 17 jours. *Tempér.:* 30°. *Quant. d'ac. titré:* 20 cm. c. *Quant. d'azote* en mgr. = différence × 0,7. Cultures dans des fioles de Winogradsky.

Nature des cultures.	Quantité de mil. nutrit. en cm. c.	Titre de l'acide après distillation de l'ammoniaque en cm. c.	Différence en cm c.		Gain total d'azote en mgr.	Gain de N en mgr. pour 1 gr. de mannite décomposé.	Observations.
			par titrage.	après déduction de l'exp. de contr.			
Contrôle	100	17,0	3,0	—	—	—	Correction: 2, cm. c. 9.
		17,2	2,8	—	—	—	
Azotobacter VII	25	15,6	4,4	1,5	1,05	2,10	
		15,7	4,3	1,4	9,8	1,96	
	100	13,3	6,7	3,8	2,66	1,33	
		12,4	7,6	4,7	3,29	1,64	
	200	10,2	9,8	6,9	4,83	1,21	
		9,9	10,1	7,2	5,04	1,26	

Tableau XIV.

Mil. nutrit.: Dextrine: 2 gr.; phosphate de potas.: 0, gr. 02; craie: 2 gr.; gélose: 2 gr.; eau de cond.: 100 cm. c. *Durée de l'exp.:* 20 jours. *Tempér.:* 28°. *Qnant. d'ac. titr.:* 20 cm. c. *Quant. d'azote* en mgr. = différence × 0,7. Cultures dans des boîtes de Petri (diam. de 15 cm.) avec 50 cm. c. de mil nutrit.

Nature des cultures.	Quand les cultures ont été analysées?	Titre de l'acide après distillation de l'ammoniaque en cm. c.	Différence en cm. c.		Gain de N en mgr pour 1 gr. de dextrine décomposé.	Observations.
			par titrage.	après déduction de l'exp. de contr.		
Contrôle	18 mai	18,5	1,5	—	—	Correction: 1, cm. c. 5.
	„	18,4	1,6	—	—	
Azotobacter VII	20 mai	14,0	6,0	4,5	3,15	Voile glaireux abondant. La culture commence à devenir foncée.
	„	13,9	6,1	4,6	3,22	
	22 mai	14,1	5,9	4,4	3,08	Culture de couleur brun foncé.
	„	14,1	5,9	4,4	3,08	

fixation d'azote a été aussi plus considérable dans une couche mince de liquide (tabl. XV et XVI).

Les données citées plus haut nous permettent de formuler la règle suivante d'aération: la fixation de l'azote par l'*Azotobacter* augmente en raison directe de la surface libre du liquide et en raison inverse de l'épaisseur de la couche du liquide.

Outre les conditions extérieures de culture et de composition du milieu, une série de facteurs biologiques qui déterminent l'activité des bactéries fixant l'azote, influencent la fixation de l'azote. Déjà dans le travail de Beijerinck et van Delden (2) nous trouvons l'indication que la fixation de l'azote n'a lieu qu'en présence d'un certain „état d'accomodation" (Accomodationszustand) qui assure l'activité de l'espèce dont on se sert. Dans son milieu naturel, dans la terre le microbe se trouve dans cet état actif. Au contraire, dans des cultures artificielles on observe habituellement une atténuation graduelle de l'activité du microbe qui trouve son expression dans la diminution du pouvoir de fixer l'azote.

Tableau XV.

Mil. nutrit.: Eau de cond.: 80 cm. c.; extrait de lin: 20 cm. c.; dextrose: 2 gr.; phosphate de potas.: 0, gr. 1; sulf. de magn.: 0, gr. 05; craie. *Durée de l'exp.:* 30 jours. *Tempér.:* 28°. *Quant. d'ac. titr.:* 20 cm. c. *Quant. d'azote* en mgr. = différence × 0,7. Culture dans des fioles de Winogradsky avec 100 cm. c.

Nature des cultures.	Quantité de milieu nutr. dans des fioles en cm. c.	Titre de l'acide après distillation de l'ammoniaque en cm. c.	Différence en cm. c. — par titrage.	Différence en cm. c. — après déduction de l'exp. de contr.	Gain total d'azote en mgr.	Gain de N en mgr. pour 1 gr. de dextrose décomposé.	Observations.
Contrôle	100	18,0	2,0	—	—	—	Correction: 2 cm. c.
		18,1	1,9	—	—	—	
Azotobact. VII + + *Cl. Past. IV*	25	15,5	4,5	2,5	1,75	3,50	Production abondante de mucosité.
		16,0	4,0	2,0	1,40	2,80	
	50	14,3	5,7	3,7	2,59	2,59	
	100	11,5	8,5	6,5	4,55	2,27	
		11,7	8,3	6,3	4,41	2,20	
	200	7,1	12,9	10,9	7,63	1,91	

Tableau XVI.

Mil. nutrit.: Eau de cond.: 80 cm. c.; extrait de lin: 20 cm. c.; dextrine 2 gr.; sel de sodium de l'acide humique *); 0, cm. c. 5; sel de sodium de l'acide pectique *): 0, cm. c. 5; phosphate de potas.: 0, cm. c. 5; craie. *Durée de l'expér.:* 20 jours. *Tempér.:* 28°. *Quant. d'ac.titr.:* 20 cm. c. *Quant. d'azote* en mgr. = différence × 0,7. Cultures dans des fioles de Winogradsky.

Nature des cultures.	Vol. de mil. nutr. en cm. c.	Titre de l'acide après distillation de l'ammoniaque en cm. c.	Différence en cm. c. par titrage.	Différence en cm. c. après deduction de l'exp. de contr.	Gain total d'azote en mgr.	Gain de N en mgr. pour 1 gr. de dextrine décomp.	Observations.
Contrôle	25	17,4	2,6	—	—	—	Correction: 2, cm. c. 6.
Azotobacter VII	„	15,7	4,3	1,7	1,09	2,18	
	„	15,7	4,3	1,7	1,09	2,18	
Azotobact. VII + Cl. Past. IV	„	14,9	5,1	2,5	1,75	3,50	
	„	15,3	4,7	2,1	1,47	2,94	
Contrôle	100	15,0	5,0	—	—	—	Correction: 5, cm. c. 1.
	„	14,8	5,2	—	—	—	
Azotobact. VII + Cl. Past. IV	„	7,5	12,5	7,4	5,18	2,59	
	„	7,2	12,8	7,7	5,39	2,69	
	„	7,0	13,0	7,9	5,53	2,76	
	„	7,2	12,8	7,7	5,39	2,69	

*) Pour obtenir les sels des acides humique et pectique 5 gr. d'acide ont été dissouts dans 100 cm. c. d'une solution de soude caustique à 2%, le liquide a été filtré ensuite.

Parmi les facteurs qui atténuent le pouvoir de fixer l'azote, il faut citer l'âge de la culture: plus la culture est vieille, plus son pouvoir de fixer l'azote est faible. Ce phénomène se manifeste d'une manière très démonstrative dans les expériences de Gerlach et Vogel (2). Chez ces auteurs une culture de l'*Azotobacter chroococcum* de 18 jours (à partir du jour de son isolement) a fixé pour 1 gr. de dextrose 10, mgr. 6 d'azote, une culture de 110 jours — 4, mgr. 6 et de 245 jours — 2, mgr. 3 d'azote. Le même phénomène a été observé par Heinze (2) et d'autres

auteurs. Cependant, dans les expériences de Lipman (2) des cultures de 1 à 2 ans de l'*Azotob. Vinelandii* et de l'*Azotob. Beijerincki* ont fixé la même quantité d'azote que des cultures fraîchement isolées.

Avec l'âge de la culture se développe la sensibilité de l'*Azotobacter* aux fortes concentrations de la matière non azotée dans le milieu. Chez Gerlach et Vogel (2) une culture fraîche de l'*Azotobacter* a fixé pour 12 gr. de sucre pendant 5 semaines 127, mgr. 9 d'azote et une culture vieille a fixé à la même teneur en sucre pendant 8 semaines seulement 23, mgr. 4. Le même fait a été constaté par A. Koch (1), Löhnis (1) et d'autres. Au contraire, ni Lipman (2), ni Krzemieniewski n'ont observé de phénomène semblable.

A côte de l'âge de la culture, sur l'état de la culture ont incontestablement une influence encore d'autres facteurs; l'ensemble de ces facteurs en agissant pendant une longue période favorisent l'apparition des particularités propres aux races. La conclusion de Beijerinck (2) concernant l'incapacité de l'*Azotobacter* de fixer l'azote libre en culture pure s'explique sans doute par le fait que l'auteur a travaillé avec une race faible. Une des espèces (races) isolées par Lipman (2) des terres américaines *(Az. Woodstownii)* était absolument incapable de fixer l'azote atmosphèrique; de trois autres l'*Azotobacter Vinelandii* fixait d'une manière particulièrement énergique l'azote. Dans les expériences de Prazmowski (2) la variété blanche de l'*Azotobacter* fixait plus énergiquement l'azote que la variété noire, qui a servi à l'isolement de la race blanche. La race blanche s'est montrée ainsi plus viable et physiologiquement plus adaptée à la fonction de la fixation de l'azote que la race noire. L'existence des particularités semblables caractéristiques de races isolées constatent aussi Freudenreich (1), Ashby (1), Krzemieniewski (2), Hoffmann et Hammer (1) et d'autres.

Suivant Prazmowski (1), il existe un lien interne entre les propriétés morphologiques de l'*Azotobacter* et son activité chimique. Bien que l'*Azotobacter* possède dans tous les stades de son développement le pouvoir de fixer l'azote atmosphérique, ce n'est qu'à l'état jeune, à la période du développement végétatif renforcée que cette fonction se manifeste dans toute sa plénitude. Avec l'âge de la cellule ce pouvoir faiblit peu à peu et assez sensiblement.

La dégénérescence rapide des cultures de l'*Azotobacter*, accompagnée de la diminution du pouvoir de fixer l'azote a provoqué des essais de trouver un moyen de les rendre de nouveau actifs. Lipman (2) a réussi à augmenter un peu l'énergie de la fixation de l'azote, en cultivant l'*Azotobacter* dans une série de générations successives dans une couche trés mince de liquide. On ne voit pas cependant de ses expériences, si cette propriété acquise devient stable. Pour stimuler le pou-

voir de fixer l'azote Heinze (2) a proposé la méthode de „culture de passage". Cet auteur répiquait la culture dégénérée morphologiquement et physiologiquement dans un milieu d'une composition autre que celui dans lequel la culture s'est atténuée. Pour les cultures de passage conviennent le mieux des milieux additionnés de terre, craie, plâtre etc. Dans le nouveau milieu l'*Azotobacter* se développe habituellement beaucoup mieux et donne un développement aussi abondant qu'auparavant. Si on ensemence le milieu primitif avec cette culture de passage, on observe un développement complètement normal. Par cette méthode l'auteur a réussi à régénérer des cultures dégénérées âgées de deux ans.

En ce qui concerne mes observations personnelles je ne veux mentionner ici que les essais de former des nouvelles races de l'*Azotobacter* par une longue culture sur des milieux nutritifs différents. Une culture de l'*Azotobacter chroococcum* isolee de la terre de Pétrograd a été cultivée dans une série de génerations sur: 1) la gélose mannitée de Beijerinck (race A) et 2) la gélose glycerinée (race B). Sur chaque milieu ont eté faits 6 reensemencements dans des intervalles de 5 jours. Ensuite ont été ensemencés avec chaque race des milieux liquides avec de la mannite et de la glycérine. Les résultats concernant le gain de l'azote sont résumés sur le tableau XVII.

On voit que l'on obtient des meilleurs résultats, au point de vue de la fixation de l'azote, avec la mannite qu'avec la glycérine, mais il n'y a pas de différence entre les races A et B. Le résultat de cette expérience ne prouve pas, certainement, encore que la voie choisie par nous ne convient pas à ce but. Il est possible que si nous avions prolongé „l'éducation des cultures" pendant plusieurs mois ou pendant une année, nous aurions provoqué des changements plus profonds et le résultat aurait été autre.

Il va de soi que l'activité chimique de l'*Azotobacter* ne se borne pas [illegible] seule fixation de l'azote libre. Nous savons déjà que ce processus endothermique a lieu parallèlement à l'oxydation de la matière non azotée qui entraine un dégagement de chaleur. Beijerinck et van Delden (2) ont déjà constaté qu'en décomposant les hydrates de carbone et les alcools supérieurs, l'*Azotobacter* ne produit pas d'acides organiques libres qui présentent les produits de décomposition habituelle des matières hydrocarbonées. La solution nutritive ne devient pas acide sous l'influence de l'*Azotobacter*, mais, au contraire, faiblement alcaline. Prazmowski (1) émet la supposition que l'hydroxyl se détache de la matière organique et il se forme des produits alcalins. A l'alcalinité du milieu est lié étroitement le phénomène de la fluorescence que l'on observe chez quelques espèces de l'*Azotobacter* (*Azotob. agile*, *Azotob. Vinelandii*).

Stoklasa a constaté parmi les produits de l'activité chimique de

Tableau XVII.

Semence: *Azotobacter IV* (races A et B): *Milieu nutrit.:* Mannite (ou glycérine): 2 gr. phosphate de potas.: 0, gr. 02; eau de conduite: 100 cm. c. *Durée de l'expér.*: 40 jours. *Températ.*: 28°. *Quant. d'ac. titr.:* 20 cm. c. *Quant. d'azote* = differ. × 0,714. Cultures dans des fioles de Winogradsky avec 100 cm. c.

Nature des cultures.	Milieu.	Titre de l'acide après destillation de l'ammoniaque en cm.	Différence en cm. c. par titrage.	Différence en cm. c. après déduction de d'exp. de contr.	Gain total d'azote en mgr.	Gain de N en mgr. pour 1 gr. d'alcool décomp.	Observations.
Contrôle	Milieu mannité	18,6	1,4	—	—	—	Correction: 1, cm. c. 3.
		18,8	1,2	—	—	—	
Race *A*		15,8	4,2	2,9	2,07	1,03	On n'observe pas de différence entre les cultures ensemencés avec la race *A* et celles avec la race *B*. Le développement est meilleur dans cette série que dans la série avec la glycérine. Sous le microscope: cult. pure de l'*Azotobacter*.
		16,1	3,9	2,6	1,86	0,93	
		15,8	4,2	2,9	2,07	1,03	
		15,6	4,4	3,1	2,21	1,10	
Race *B*		15,5	4,5	3,2	2,28	1,14	
		15,6	4,4	3,1	2,21	1,10	
		16,2	3,8	2,5	1,79	0,89	
		15,9	4,1	2,8	2,00	1,00	
Contrôle	Milieu glycériné	18,7	1,3	—	—	—	Correction: 1 cm
		18,6	1,4	—	—	—	
Race *A*		17,3	2,7	1,4	1,00	0,50	On n'observe pas de différence entre les cultures ensemencées avec les races *A* et *B*. La culture est pure partout.
		16,9	3,1	1,8	1,29	0,64	
		17,2	2,8	1,5	1,07	0,53	
		17,3	2,7	1,4	1,00	0,50	
Race *B*		16,6	3,4	2,1	1,50	0,75	
		16,8	3,2	1,9	1,36	0,68	
		17,3	2,7	1,4	1,00	0.50	

l'*Azotobacter* des quantités assez considérables d'alcool éthylique et de différents acides organiques (acides lactique, acétique, butyrique et, à la décomposition du dextrose, aussi l'acide formique). Ses cultures dégageaient

aussi des gaz (hydrogène et CO_2). Mais les autres auteurs [Krzemieniewski (2), Jones (1) etc.] qui se sont occupés de ce problème n'ont pu constater parmi les produits de l'activité de l'*Azotobacter* ni d'alcools, ni d'acides, ni de gaz. C'est pourquoi il faut supposer que Stoklasa a travaillé ou bien avec des cultures non pures ou bien avec une autre espèce ressemblant morphologiquement à l'*Azotobacter*. Dans mes expériences je n'ai pu trouver ces produits dans une culture de l'*Azotobacter* de trois mois (un litre de solution nutritive qui renfermait primitivement 5 gr. de mannite a été soumis à l'analyse dans ce cas).

On peut poursuivre la marche graduelle de l'oxydation de la matière carbonée sous l'influence de l'*Azotobacter* en se guidant sur la quantité de l'acide carbonique qui est dégagée pendant un intervalle déterminé, l'acide carbonique étant le produit final du travail oxydant de cette espèce.

Dans cette direction, des expériences ont été faites par Stoklasa (1) et Kraïnsky (2). En faisant des cultures dans un matras de Fernbach à fond large, Stoklasa a établi que dans une solution de mannite à 2% le dégagement le plus énergique d'acide carbonique a lieu le 4—10 jour, ensuite la quantité de gaz diminue peu à peu. L'énergie du dégagement de CO_2 a été dans ce cas assez considérable.

Dans les expériences de Kraïnsky a été déterminée la quantité de CO_2 dégagée par une culture de l'*Azotobacter* dans des fioles d'Erlenmeyer dans une solution de mannite à $1^0/_0$. Le caractère de la courbe du dégagement de CO_2 est chez cet auteur tout autre que chez Stoklasa. La courbe monte peu à peu jusqu'au 21—24 jour, puis descend jusqu'au 32—39 jour. Dans des vieilles cultures le plus fort dégagement de CO_2 a été observé encore plus tard, le 36ième jour. La marche ralentie de l'oxydation de la mannite chez Kraïnsky s'explique par le fait que chez cet auteur l'aération a été moins parfaite. Lorsque dans une autre expérience Kraïnsky a réduit à moitié l'épaisseur de la couche du liquide, le maximum du dégagement de CO_2 fut atteint déjà le 6—9 jour.

J'ai fait aussi une expérience pour déterminer la quantité de CO_2 dégagée par une culture sur le milieu solide suivant:

Extrait de lin à 5% . .	1000 cm. c.
Phosphate bipotassique .	0, gr. 2
Dextrine	10 gr.
Craie	20 „
Gélose	20 „

Ce milieu a été versé en couche mince dans un vase plat muni de tubes d'entrée et de sortie pour faire passer le gaz. Le diamétre du vase est environ de 23 cm., la hauteur environ de 3 cm., la capacité environ de 1 litre. Pour l'ensemencement ont s'est servi de 25 cm. c. d'une émulsion

d'une culture sur gélose de l'*Azotobacter* dans de l'eau de conduite. L'émulsion a été versée sur toute la surface de la plaque.

La disposition de l'appareil est réprésentée sur la fig. 2.

On faisait passer l'air par l'appareil dans la direction de 10 à 1; l'air était aspiré par l'aspirateur (1). Le courant d'air passait d'abord par un cylindre avec des morceaux de pierre ponce mouillés de H_2SO_4 concentré (10), puis par un cylindre semblable avec de la chaux sodée, plus loin par un verre avec H_2SO_4 concentré (8) et enfin par le vase plat avec la culture (sur le support 7). Puis le courant d'air passait par un verre avec H_2SO_4 (6) et un cylindre avec $CaCl_2$ [1]) pour entrer dans deux tubes d'absorbtion en U (4 et 3), dont le 4[ième] était rempli de chaux

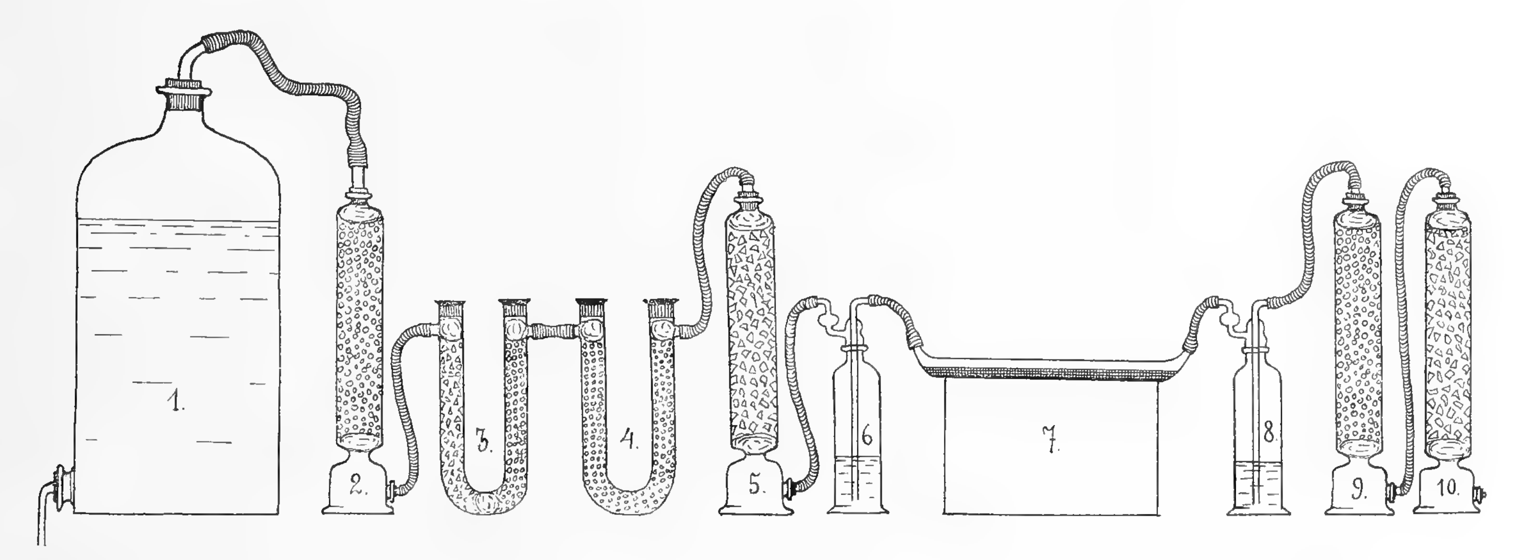


Fig. 2. Disposition de l'appareil pour la détermination de la quantité de CO_2 dégagée par une culture de l'*Azotobacter chroococcum* sur un milieu solide.

sodée et le 3[ième] à droite de cette même substance et à gauche de $CaCl_2$ pour faire absorber l'humidité. Le gaz passait ensuite par un cylindre avec de la chaux sodée (2) et l'aspirateur (1).

La vitesse du courant d'air qui passait par l'appareil. était réglée sur le nombre de bulles d'air passant par les verres 6 et 8 pendant une minute (environ 50 bulles). A une telle vitesse il passait par l'appareil pendant 24 heures environ 20 litres d'air.

L'expérience a duré 30 jours. L'appareil se trouvait sur la table de la chambre d'étuve, où la température oscillait dans les limites de 2° (20° à 22°).

La quantité de CO_2 dégagée était déterminée toutes les 24 heures à la même heure (3 heures après midi), on pesait en même temps les

1) Le chlorure de calcium fut préalablément saturé de CO_2, dont l'excés était éliminé à l'aide d'un courant d'air.

tubes 3 et 4. La différence entre le poids pendant deux jours successifs indiquait le poids de CO_2 qui s'est dégagée pendant 24 heures. A la fin de l'expérience, lorsque le dégagement de CO_2 s'est ralenti, on pesait toutes les 48 heures.

Les données obtenues sont résumées sur le tableau XVIII et réprésentées graphiquement sous forme d'une courbe.

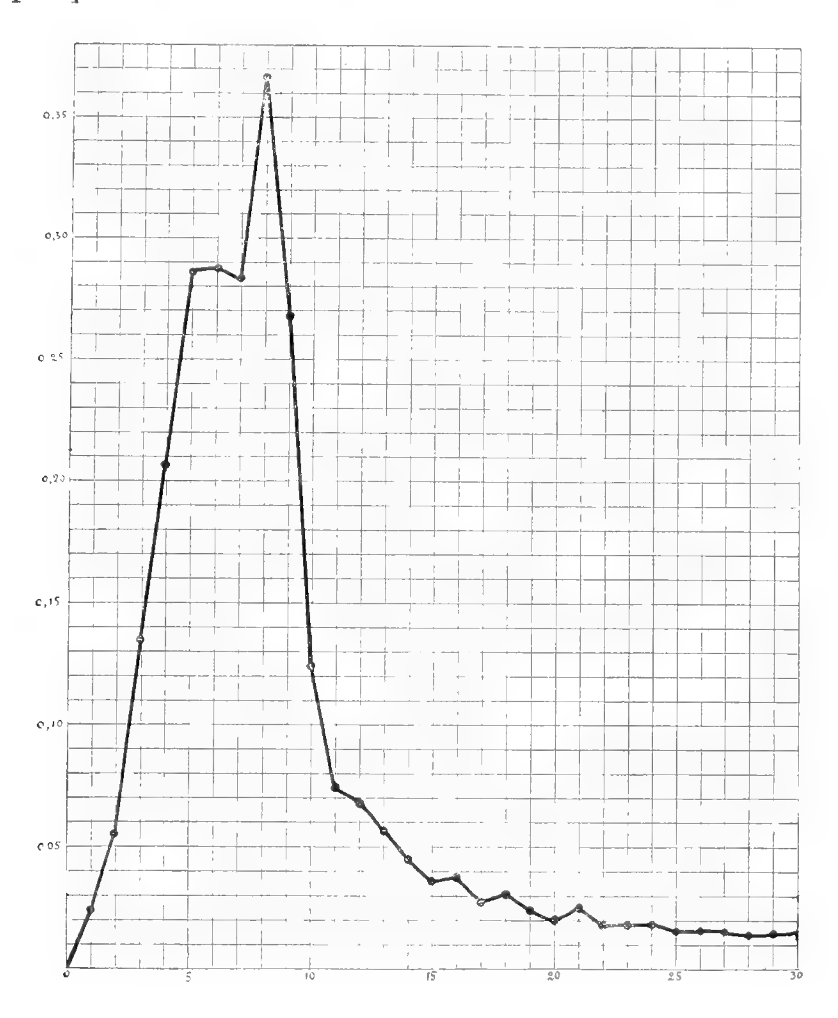


Fig. 3. La courbe du dégagement de CO_2 par une culture de l'*Azotobacter chroococcum.*

Nous voyons que la quantité de CO_2 dégagé augmentait rapidement pendant les premiers 8 jours (abstraction faite du ralentissement entre le 5 et 7 jour) pour diminuer aussi rapidement pendant les 3 jours suivants. A partir de l'onzième jour le dégagement de CO_2 diminuait peu à peu jusqu'à l'arrêt presque complet.

Pendant tout le temps il s'est dégagé 2, gr. 6275 de CO_2, ce qui correspond à 1329 cm. c. de ce gaz (à 0^0 et à la pression de 760 mm.). Un simple calcul montre que sous forme de CO_2 on a obtenu plus de 80% du carbone renfermé dans la dextrine (calculé pour la préparation sèchée à l'air). Il faut avoir en vue qu'une partie de CO_2 a pu se former aux dépens de la décomposition de la craie.

Tableau XVIII.

Jour.	Tempé-rature.	Poids des tubes.	Quantité de CO_2 en gr.	Observations.
	20°	77,3835	—	
1	20°	77,4060	0,0225	
2	20°	77,4610	0,0550	
3	20°	77,5949	0,1339	
4	20°	77,8029	0,2080	Des portions isolées de la plaque commencent à devenir foncées.
5	20°,5	78,0894	0,2865	Un quart de la plaque est devenu foncé.
6	20°	78,3780	0,2886	
7	20°,5	78,6594	0,2814	Un tiers de la plaque est devenu foncé. La plaque est posée horizontalement (à l'aide d'un niveau à bulle d'air).
8	21°	79,0264	0,3670	
9	21°	79,2949	0,2685	Une moitié de la plaque est devenue foncée.
10	22°	79,4173	0,1224	
11	21°	79,4910	0,0737	Trois quarts de la plaque sont devenus foncés.
12	21°	79,5602	0,0692	Toute la plaque est devenue foncée.
13	21°	79,6180	0,0578	
14	21°	79,6622	0,0442	
15	21°	79,6985	0,0363	
16	21°	79,7375	0,0390	
17	21°	79,7658	0,0283	
18	21°	79,7962	0,0304	
19	21°	79,8209	0,0247	
20	20°,5	79,8409	0,0200	
21	21°	79,8670	0,0261	
22	20°,2	79,8850	0,0180	A partir de ce jour on pesait toutes les 48 heures.
23	20°	} 79,9220	0,0185	
24	20°		0,0185	
25	20°	} 79,9540	0,0160	
26	20°		0,0160	
27	20°	} 79,9820	0,0140	
28	20°		0,0140	
29	20°	} 80,0110	0,0145	
30	20°		0,0145	

A fin de l'expérience la surface de la plaque est resté humide et la était couverte d'une masse glaireuse d'un brun foncé de l'*Azotobacter*. L'analyse microscopique de la culture à montré qu'elle est restée pure.

Les autres données concernant le travail chimique de l'*Azotobacter* ont un caractère fragmentaire. On n'a pas fait de recherches systèmatiques dans cette direction jusqu'à présent.

Le travail chimique de l'*Azotobacter* se manifeste d'une manière démonstrative à la décomposition de l'amidon dans des milieux solides. Un milieu gélosé contenant 0,5 p. 100 d'amidon soluble ou de dextrine est versé dans une boîte de Petri et après la solidification de la gélose on fait une strie à la surface par une culture de l'*Azotobacter*. Le troisième jour déjà on peut constater avec une solution d'iode la zone de décomposition de l'amidon autour de la strie de l'ensemencement (pl. fig. 4), le 7ième jour cette zone occupe déjà un espace considérable (fig. 5). On constate la région de la décomposition de l'amidon ou de la dextrine grâce à ce que les parties de la plaque, où l'amidon ou la dextrine sont restés non décomposés, se colorent par l'iode dans la couleur correspondante: bleue pour l'amidon et brun rouge pour la dextrine.

Suivant les données de Heinze (1), l'*Azotobacter*, qui dépose le glycogène dans ces cellules, peut l'utiliser aussi, à l'absence des matières hydrocarbonnées dans le milieu qui l'entoure, avec la formation du dextrose.

A côté d'un pouvoir bien prononcé d'oxyder, l'*Azotobacter* possède aussi on pouvoir réducteur. Suivant Beijerinck et van Delden (2) il réduit les nitrites et les nitrates en formant de l'ammoniaque. Le même fait a été constaté aussi par Stoklasa (2). Dans mes expériences dans un milieu liquide avec 2% de mannite et 0,1 p. 100 de nitrate de potassium des traces d'ammoniaque n'ont pu être constatées que trois semaines après l'ensemencement (à 30°).

La quantité de l'ammoniaque a augmenté un peu ensuite, mais une quantité considérable de nitrate est tout de même restée non réduite pendant les deux mois de l'observation. Dans les conditions données le pouvoir réducteur de l'*Azotobacter* ne se manifestait, par conséquent, que très faiblement.

L'indication de Heinze (1) suivant laquelle l'*Azotobacter* provoque dans „certaines conditions de culture“ la nitrification des sels ammoniacaux ne peut pas être considérée comme conforme à la réalité; c'est d'ailleurs une constatation qui n'a pas été confirmée par d'autres auteurs; il n'existe qu'une indication de Jones (1) qui a trouvé l'acide azotique dans une culture d'un mois de l'*Azotobacter* dans le milieu mannité d'Ashby. Il est possible que les deux auteurs ont eu affaire aux oxydes d'azote qui se trouvent toujours dans l'air de laboratoire et qui se sont dissouts dans le milieu nutritif.

Bibliographie.

Ashby (1). *Journ. Agric. Scienc.*, 1907.

Beijerinck (1). Über oligonitrophile Microben, *Centralbl. f. Bakt.*, 2 Abt., t. 7, p. 561, 1901.

(2) (u. van Delden). Über die Assimilation des freien Stickstoffes durch Bakterien, *ibid.*, t. 9, p. 3, 1902,

(3) Binding van vrije atmospherische stickstof door Azotobacter in reinkultuur, *Versl. der wisen natuurk. afdeel. kon. Akad. van Wetenschappen*, p. 46, 1908. (Analyse: *Centralbl. f. Bakt.*, 2 Abt., t. 22, p. 443, 1909).

Bonnema (1). Gibt es Bakterien, die freien Stickstoff assimilieren, oder ist dies ein chemischer Prozess? *Chem. Zeitung*, t. 27, p. 148 et 825, 1903.

Christensen (1). Über das Vorkommen und die Verbreitung des Azotob. chroococcum in verschiedenen Böden, *Centralbl. f. Bakt.*, 2 Abt., t. 17, p. 109, 1907.

(2) Eine biologische Methode für die Bestimmung von Alkalikarbonaten im Erdboden, *ibid.*, t. 19, p. 735, 1909.

Dzierzbicki (1). Beiträge zur Bodenbakteriologie, *Bull. intern. de l'Ac. des sc. de Cracovie*, Série B, p. 21, 1910.

Fischer, H. (1). Zweiter Beitrag zur Kenntnis der Lebensbedingungen von Stickstoff sammelnden Bakterien, *Centralbl. f. Bakt.*, 2 Abt., t. 15, p. 235, 1906.

Freudenreich (1). Über stickstoffbindende Bakterien, *Centralbl. f. Bakt.* 2 Abt., t. 10, p. 514, 1903.

Gerlach u. Vogel (1). Stickstoffsammelnde Bakterien, *Centralbl. f. Bakt.*, 2 Abt., t. 8, p. 669, 1902.

(2) Weitere Versuche mit stickstoffbindenden Bakterien, *ibid.*, t. 9, p. 817 et 880, 1902.

(3) Weitere Versuche mit stickstoffbindenden Bakterien, *ibid.*, t. 10, p. 636, 1903.

Heinze (1). Über die Bildung und Wiederverarbeitung von Glykogen durch niedere pflanzliche Organismen, *Centralbl. f. Bakt.*, 2 Abt., t. 12, p. 43, 1904.

(2) Einige Berichtigungen und weitere Mitteilungen zu der Abhandlung „Über die Bildung“ ... etc., *ibid.*, t. 14, p. 9, 75 et 161, 1905.

(3) Eine Notiz über alte Reinkulturen von Azotobacter und den Wert sogenannter Passagekulturen, *ibid.*, t. 14, p. 175, 1905.

Hoffmann u. Hammer (1). Two new methods for growing Azotobacter, *Centralbl. f. Bakt.*, 2 Abt., t. 24, p. 181, 1909.

(2) Some Factors concerned in the Fixation of Nitrogen by Azotobacter, *ibid.*, t. 28, p. 127, 1910.

Issatchenko, B. (1). Recherches sur les microbes de l'Océan Glacial arctique. Travaux de l'Expédition Scientifique pour l'exploration des pêcheries de la côte Mourmane (en langue russe).

Jones (1). A Morphological and Cultural Study of Some Azotobacter, *Centralbl. f. Bakt.*, 2 Abt., t. 38, p. 14, 1913.

Kaserer (1). Zur Kenntnis des Mineralstoffbedarfs von Azotobacter, *Ber. d. d. bot. Ges.*, t. 28, p. 208, 1910.

(2) Über die biologische Reizwirkung natürlicher Humusstoffe, *Centralbl. f. Bakt.*, 2 Abt., t. 31, p. 577, 1911.

Keding (1). Weitere Untersuchungen über N-bildende Bakterien, *Wiss. Meeresunters.*, Abt. Kiel, Neue Folge, t. 9, p. 275, 1906.

Keutner (1). Über das Vorkommen und die Verbreitung stickstoffbindender Bakterien im Meere, *Wiss. Meeresunters.*, Abt. Kiel, Neue Folge, t. 8, p. 1, 1905.

Koch (1). Die Bindung von freiem Stickstoff durch frei lebende niedere Organismen. Handb. d. techn. Myk., t, 3, p. 1.

(2) Über Luftstickstoffbindung im Boden mit Hilfe von Zellulose als Energiematerial, *Centralbl. f. Bakt.*, 2 Abt., t. 27, p. 1, 1910.

Kraïnsky, A. (1). Azotobacter chroococcum und seine Wirkung im Boden, *Centralbl. f. Bakt.* 2 Abt., t. 20, p. 725, 1908.

(2) L'enrichissement de la terre en azote et les microorganismes aérobies assimilant l'azote libre. Kiew 1911.

Krzemieniewska, H. (1). Zur Ernährung des Azotobacters, *Bull. intern. de l'Ac. des sc. de Cracovie*, p. 445, 1908.

Krzemieniewski, S. und Krzemieniewska, H. (1). Zur Biologie der stickstoffbindenden Mikroorganismen, *ibid.*, p. 560, 1906.

Krzemieniewski, S. (1). Untersuchungen über Azotobacter chroococcum Beij., *ibid.*, p. 929, 1908.

Lipman (1). Experiments on the transformation and fixation of nitrogen by bacteria, *N. Jersey St. Rep.*, t. 24, p. 217, 1903; t. 25, p. 237, 1904.

(2) Azotobacter-Studies, *ibid.*, t. 26, p. 254, 1905.

Lipman a. Sharp (1). Toxic effects of „Alkali Salts" in soils on soil Bakteria. III. Nitrogen Fixation. *Centralbl. f. Bakt.*, 2 Abt., t. 35, p. 647, 1912.

Löhnis (1). Beiträge zur Kenntnis der Stickstoffbakterien, *ibid.*, t. 14, p. 582 et 713, 1905.

Löhnis u. Pillai (1). Über stickstofffixierende Bakterien, *ibid.*, t. 19, p. 87, 1907; t. 20, p. 781, 1908.

Löhnis u. Westermann (1). Über stickstofffixierende Bakterien, *ibid.* t. 22, p. 234, 1909.

Omeliansky u. Ssewerowa (1). Die Pigmentbildung in Kulturen des Azotobacter chroococcum, *Centralbl. f. Bakt.*, 2 Abt., t. 29, p. 643, 1911.

Omeliansky u. Sieber (1). Zur Frage nach der chemischen Zusammen-

setzung der Bakterienkörper des Azotobacter chroococcum, *Zeitschr. f. physiol. Ch.*, t. 88, p. 445, 1913.

Oméliansky, V. (1). Sur les rapports entre la fixation de l'azote et la dépense en substance organique non azotée chez les bactéries fixant l'azote. Ces *Archives*, t. 18, 1914.

(2) Fixation de l'azote atmosphérique par l'action des cultures mixtes ibid., t. 18, 1914.

(3) Sur l'emploi dans la pratique agricole des microbes fixateurs d'azote vivant librement dans la terre, *Journal de microbiologie*, t. 2, p. 125, 1915 (en langue russe).

Oméliansky V. et M-lle Solounskoff (1). Sur la distribution des bactéries azoto-fixatrices dans les sols russes. Ces *Archives*, t. 18, p. 459, 1915.

Pillai (1). Untersuchungen über den Einfluss der Düngung und anderer Faktoren auf die Fähigkeit der Mikroorganismen des Bodens, *Thèse*. Leipzig, 1908.

Prazmowski (1). Azotobacter-Studien. II. Physiologie und Biologie. *Bull. de l'Ac. d. Sc. de Cracovie*, Juillet, 1912.

Pringsheim (1). Über die Verwendung von Cellulose als Energiequelle zur Assimilation des Luftstickstoffs, *Centralbl. f. Bakt.*, 2 Abt., t. 23, p. 300, 1909.

(2) Weiteres über die Verwendung von Cellulose als Energiequelle zur Assimilation des Luftstickstoffs, *ibid.*, t. 26, p. 222, 1910.

Rahn (1). Die Zersetzung der Fette, *Centralbl. f. Bakt.*, 2 Abt., t. 15, p. 53, 1905.

Reinke (1). Zur Kenntnis der Lebensbedingungen von Azotobacter, *Ber. d. d. bot. Ges.*, t. 22, p. 95, 1904.

Remy u. Rösing (1). Über die biologische Reizwirkung natürlicher Humusstoffe, *Centralbl. f. Bakt.*, 2 Abt., t. 30, p. 349, 1911.

Schneider (1). Studien über die Stickstoffsammlung im Ackerboden, *Landw. Jahrb.*, Erg.-B. 4, p. 67, 1906.

Söhngen (1). Einfluss von Kolloiden auf mikrobiologische Prozesse, *Centralbl. f. Bakt.*, 2 Abt., t. 38, p. 621, 1913.

Stoklasa (1). Über die chemischen Vorgänge bei der Assimilation des elementaren Stickstoffes durch Azotobacter und Radiobacter, *Ber. d. d. bot. Ges.*, t. 24, p. 22, 1906.

(2) Beiträge zur Kenntnis der chemischen Vorgänge bei der Assimilation des elementaren Stickstoffs durch Azotobacter und Radiobacter, *Centralbl. f. Bakt.*, 2 Abt., t. 21, p. 484, 1908.

Thiele (1). Die Verarbeitung des atmosphärischen Stickstoffes durch Mikroorganismen, *Landw. Versuchsst.*, t. 63, p. 161, 1905.

Warmbold (1). Untersuchungen über die Biologie stickstoffbindender Bakterien. Ein Beitrag zur Kenntnis der Veränderungen im Stickstoffgehalte des unbebauten Ackerbodens, *Landw. Jahresber.*, t. 35, p. 1, 1906.

Explication des figures.

Fig. 1—3. Colonies et stries de l'*Azotobacter chroococcum* à la surface d'un milieu gélosé et dextrinée avec de la craie.

Fig. 4. Strie de l'*Azotobacter* à la surface d'un milieu gélosé avec 0,5 p. 100 d'amidon soluble. Aspect de la plaque arrosée d'une solution d'iode le 3ième jour après l'ensemencement.

Fig. 5. La même culture le 7ième jour.

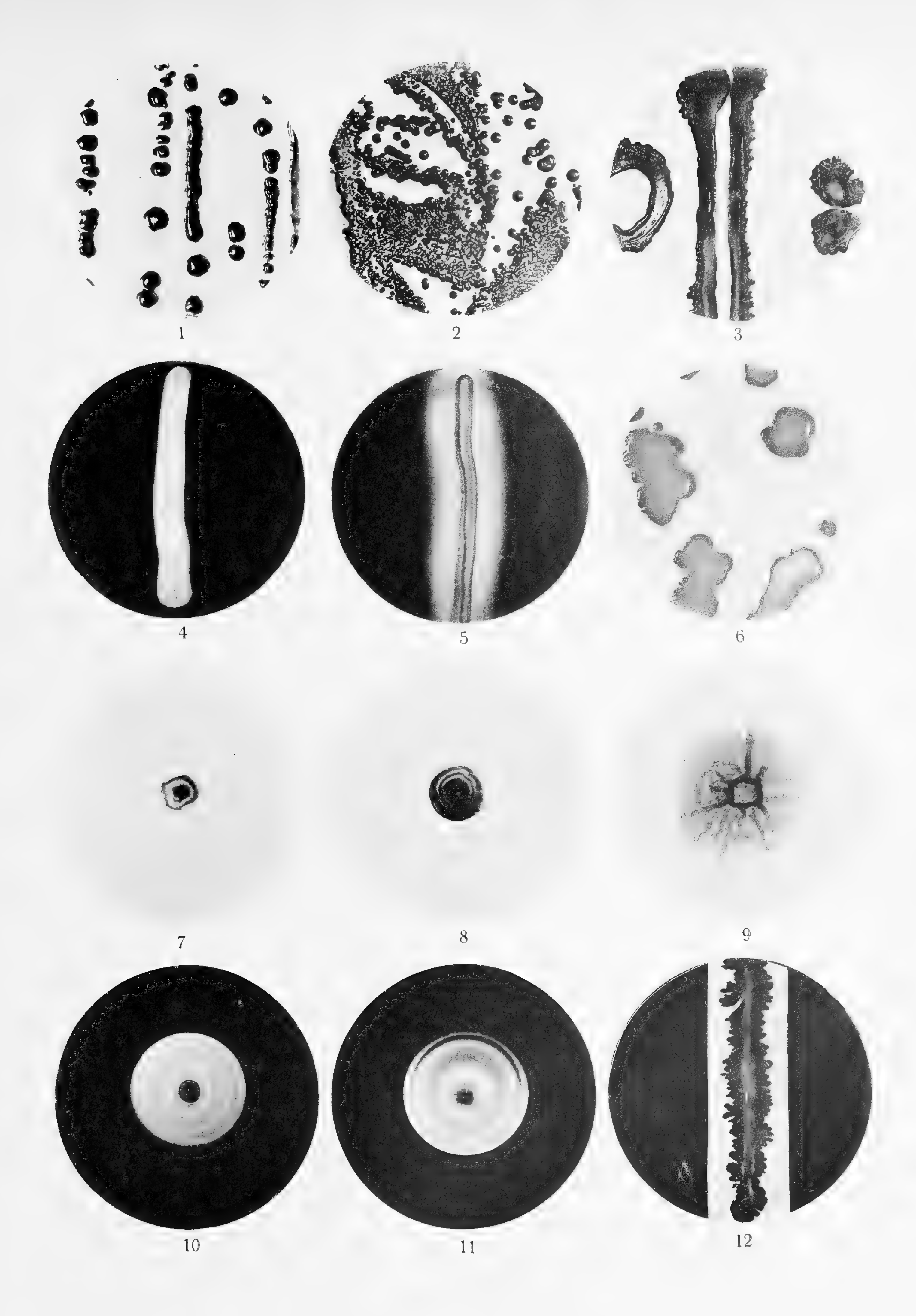
Fig. 6. Des grandes colonies de l'*Azotobacter chroococcum* à la surface de la gélose dextrinée avec de la craïe. A la périphérie les colonies sont plus fortement colorées en brun qu'à l'intérieur.

Fig. 7—9. Développement graduel d'une colonie de l'*Azotobacter* sur la gélose dextrinée (photographies aggrandies). Sur les fig. 7—8 on voit la structure concentrique et sur la fig. 9 la structure radiaire des colonies.

Fig. 10 et 11. Colonies de l'*Azotobacter* sur un milieu gélosé contenant de la mannite, de la dextrine et du malate de calcium chaque substance en quantité de 0,5 p. 100.

Fig. 12. Une strie de l'*Azotobacter chroococcum* qui s'est bien répandue à la surface de la gélose dextrinée avec de la craie. La bande de la gélose avec la strie est découpée et photographiée sur un fond noir.




1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12

Sur la physiologie et la biologie des bactéries fixant l'azote.

Par. **V. Omeliansky.**

Deuxième article[1]).

Clostridium Pasteurianum.

La physiologie et la biologie du microbe anaérobie, fixateur d'azote, du *Clostridium Pasteurianum* est relativement moins étudiée que la physiologie et la biologie du microbe aérobie, de l'*Azotobacter*. Cela s'explique, d'une part, par les difficultés de la technique des cultures anaérobies, d'autre part, par l'instabilité et la sensibilité du *Clostridium* et par sa dégénérescence rapide. Un certain rôle a joué aussi l'opinion courante qui considère le *Clostridium* comme une espèce beaucoup moins importante, au point de vue pratique, que l'*Azotobacter*. Dans un de mes articles précédents [Omeliansky (3)] j'ai déjà indiqué que cette opinion n'est pas fondée.

Nous avons décrit autre part [Omeliansky et Solounskov (1)] la méthode d'accumulation du *Clostridium* proposée par Winogradsky (1) et nous ne nous en occuperons pas ici. Nous voulons seulement ajouter que cette méthode, recommandée déjà il y a presque vingt cinq ans, est encore à présent la meilleure que l'on connaît pour l'isolement du *Clostridium* de la terre. Certains auteurs, il est vrai, ont proposé différentes modifications, mais nous n'y voyons pas d'amélioration de la méthode. C'est ainsi, que Bredemann (1) verse la solution de Winogradsky non pas dans des fioles à fond plat, mais dans des tubes à essais, l'épaisseur du liquide étant de 6 cm., ensemence chaque tube avec 2 gr. de terre et pasteurise à 80° pendant 10 minutes. Déjà 48 heures après l'ensemencement le liquide commence à fermenter; ensuite

1) Premier article dans ces *Archives* t. XIX, fasc. 2.

on garde les tubes environ 8 jours inclinés. En bas sous la couche de liquide il se forme un voile glaireux contenant des cellules de *Clostridium.* On broie une partie de ce voile avec de l'eau stérilisée et on en ensemence le milieu solide.

Comme milieu solide Winogradsky recommande des tranches de pomme de terre ou de carotte enduites à la surface de craie pour neutraliser les acides qui se forment. Sur ce milieu le *Clostridium* se développe d'une manière excellente dans des conditions anaérobies, en formant des colonies caractéristiques.

Bredemann préfère comme milieu solide une gélose sucrée, légérement alcaline de composition suivante:

Dextrose	1 gr.
Peptone Witte	1, gr. 2
Extrait de viande de Liebig	0, „ 8
Chlorure de sodium	0, „ 2
Gélose	1, „ 6
Eau distillé	100 gr.

La gélose peut être remplacée par 20% de gélatine. On prend une concentration si élevée de gélatine pour avoir la possibilité de cultiver le *Clostridium* à la temp. de 22⁰ à 25⁰.

Bredemann obtenait aussi un bon développement sur les milieux gélosés suivants:

1)	Solution minérale	100
	Asparagine	1
	Saccharose	2
	Gélose	1,6
et 2)	Solution minérale	100
	Amidon de pomme de terre	2,5
	Nitrate d'ammonium	0,1
	Gélose	1,6

Sur les milieux ordinaires avec de la viande et de la peptone (bouillon, gélose, gélatine) non additionnés de dextrose le *Clostridium* ne se développe que très faiblement, c'est pourquoi Winogradsky conseille de vérifier la pureté de la culture en ensemençant le bouillon qui ne doit pas donner de trouble. Suivant Bredemann, ce caractère ne peut servir de critérium de la pureté de la culture, car, selon ses expériences, le *Clostridium* en culture pure donne un trouble dans le bouillon.

„L'aspect extérieur des colonies sur pomme de terre“, dit Winogradsky (1); „ne présente rien de particulier; des petites masses mamelonnées, couleur jaunâtre n'excèdent jamais un millimètre en longueur et autant en hauteur. Sans craie il y a une odeur forte d'acide butyrique“. Sur la pomme de terre et surtout sur la carotte les colonies sont gonflées de bulles de gaz.

Sur la gélose sucrée les colonies ont l'aspect de mamelons ronds, bien limités. Sur la gélose amidonée les colonies sont très petites, ont des bords irréguliers qui pénétrent sous forme de rayons à l'intérieur du milieu de telle manière qu'il est difficile d'enlever la colonie.

Winogradsky qui a isolé, le premier, le *Clostridium Pasteurianum* l'a décrit comme un microbe strictement anaérobie appartenant au groupe des ferments butyriques. En couche liquide mince à l'accès libre de l'oxygène, on ne peut le cultiver qu'en culture mixte avec des bactéries aérobies qui forment un voile à la surface et absorbent tout l'oxygène de l'air. Dans des conditios anaérobies, dans une atmosphère d'azote cette espèce se développe plus régulièrement.

Dans la suite Pringsheim (1 et 3) a isolé de la pomme de terre americaine une espèce spéciale *(Clostridium americanum)* ressemblant, au point de vue morphologique, au *Clostridium* décrit plus haut, et qui fixe comme lui l'azote libre, mais se développe dans des conditions aérobies.

Bredemann (1) qui a eu à sa disposition des dizaines d'espèces différentes de *Clostridium*, entre autres les espèces décrites par Winogradsky et Pringsheim, est arrivé à la conclusion qu'elles peuvent toutes se développer plus ou moins normalement et provoquer la fermentation du milieu non azoté en présence de l'oxygène. Cette vie „aérobié“ des organismes anaérobies Bredemann se répresente de la manière suivante. Les cellules mobiles de *Clostridium*, en arrivant dans les couches supérieures du liquide dans la région de la diffusion de l'oxygène, absorbent ce gaz, mais ne meurent pas et retournent vivantes dans les couches profondes du liquide qui sont privées d'oxygène ou contiennent ce gaz en quantité insignifiante. Ici a lieu une régénération des cellules, elles montent de nouveau à la surface etc. Une circulation semblable a lieu jusqu'au commencement de la fermentation. Cette dernière crée des conditions qui facilitent la vie anaérobie, car l'oxygène est chassé par les gaz qui se dégagent à la fermentation, par l'hydrogène et l'acide carbonique. Pour la réussité de la culture on doit ainsi faire un ensemencement abondant: de telle manière on facilite le développement de la culture jusqu'au commencement de la fermentation. Suivant les expériences de Bredemann, la teneur maxima en oxygène qui permet encore la germination des spores du *Clostridium* correspond à 30 mgr. d'oxygène pour 1 litre. Si l'on ensemence la surface d'un milieu gélosé dans un tube à essai avec une culture jeune et forte, alors en présence de l'oxygène le développement du *Clostridium* a lieu principalement dans l'eau de condensation où la pression partielle de l'oxygène est un peu affaiblie. Les conditions de la vie anaérobie ou aérobie n'ont pas, suivant Bredemann, d'influence sensible sur la grandeur de la fixation de l'azote.

Winogradsky considère la température 20° à 25° comme meilleure température pour le développement du *Clostridium*. Au dessous de 20° le *Clostridium* retarde dans son développement, au dessus de 30° à 35° on observe des anomalies en ce qui concerne la croissance. Bredemann, au contraire, considère la température de 28° à 30° comme température optima pour le *Clostridium*.

Pour constater comment le *Clostridium* se comporte dans différentes températures j'ai fait deux séries d'expériences, dont les résultats sont rapportés dans les tableaux I et II.

Tableau I.

Nature des cultures: Clostrid. de Volhyn. + bac. D. *Mil. nutrit.*: dextrose: 2 gr.; solut. minér. 100 cm. c., craie. *Durée de l'expérience*: 20 jours. *Quant. d'ac. titr.*: 20 cm. c. *Quantité d'azote* en mgr. = différ. × 0,714. Cultures dans des fioles de Winogradsky avec 100 cm. c. de milieu nutrit.

Température.	Titre de l'acide après distillation de l'ammoniaque en cm. c.	Différence en cm. c. par titrage.	Différence en cm. c. après déduction de l'exp. de contrôle.	Gain total d'azote en mgr.	Gain d'azote en mgr. pour 1 gr. de dextrose décomp.	Observations.
Contrôle	18,4	1,6	—	—	—	Sans infection. Correction: 1, cm. c. 6.
Tempér. ordin. (17—18°).	11,7	8,3	6,7	4,78	2,39	La fermentation a commencé le 6ième jour. Il n'y a pas de sucre. Sous le microscope le *Clostridium* a un aspect normal. Il y a beaucoup de spores.
	12,1	7,9	6,3	4,50	2,25	
	12,3	7,7	6,1	4,36	2,18	
28°.	12,8	7,2	5,6	4,00	2,00	La fermentation a commencé le 3ième jour. Il n'y a pas de sucre. Sous le microscope le *Clostridium* a un aspect normal. Il y beaucoup de spores.
	13,0	7,0	5,4	3,86	1,93	
	12,8	7,2	5,6	4,00	2,00	
37°.	14,5	5,5	3,9	2,78	1,39	La fermentation a commencé le 11ième jour. Traces de sucre seulement dans le première fiole (1, mgr. 39 de N). Le *Clostridium* ne forme pas de spores. Beaucoup de formes d'involution.
	14,0	6,0	4,4	3,14	1,57	
	13,8	6,2	4,6	3,28	1,64	

Il suit du tableau I que la fermentation a commencé le plus tôt à 28° et a retardé le plus à 37°. A cette dernière température dans un des matras au moment de l'analyse une partie du sucre est restée non décomposée; à l'examen microscopique on a constaté dans les cultures beaucoup de formes d'involution. A cette température il y avait aussi une fixation minima d'azote. Un résultat analogue a été obtenu aussi pour la température de 35° (tabl. II). On voit ainsi que la température de 35° à 37° ne convient pas au développement du *Clostridium.* En ce qui concerne la température ordinaire (17° à 18°) et la temp. de 28° à 30°, il se manifestait dans ce cas un phénomène assez curieux. Le température de 30° est incontestablement plus favorable à la fermentation du sucre: la fermentation a lieu plus rapidement et marche plus énergiquement. Mais pour l'effet utile de la fixation de l'azote cette température est moins favorable que la température ordinaire. Cela peut être expliqué par le fait que la fermentation est trop énergique à 30°, et une partie de la matière énergétique est décomposée sans que la fixation en profite.

Tableau II.

Nature des cultures: Clost. Past. IV + bac. D. *Milieu nutrit.:* dextrose: 2 gr.; solut. minér.: 100 cm. c., craie. *Durée de l'expér.:* 46 jours; *Quant. d'acide titr.:* 20 cm. c. *Quantité d'azote* en mgr. = différence × 0,7. Cultures dans des fioles de Winogradsky avec 100 cm. c. de mil. nutrit.

Température.	Titre de l'acide après distillation de l'ammoniaque en cm. c.	Différence en cm. c.		Gain total d'azote en mgr.	Gain d'azote en mgr. pour 1 gr. de dextrose décomp.	Observations.
		par titrage.	après déduction de l'exp. de contr.			
Ordinaire (environ 18°).	16,7	3,3	—	—	—	Contrôle (sans infect.). Correction: 3, cm. c. 3.
	12,4	7,6	4,3	3,01	1,50	Tout le sucre est décomposé.
	12,3	7,7	4,4	3,08	1,54	
30°.	13,5	6,5	3,2	2,24	1,12	
35°.	14,2	5,8	2,5	1,75	0,87	Une partie du sucre est restée non décomposée.

Suivant Bredemann, les spores de *Clostridium* sont tuées à 100° en cinq minutes, à 80° elles supportent un chauffage pendant une heure

entière. J'ai soumis les spores de *Clostridium* à l'action d'un chauffage, en utilisant la technique décrite dans l'article précédent [Omeliansky (2)]. Les avantages de cette technique consistent en ceci qu'elle permet de régler d'une manière plus précise le temps du chauffage de la culture, le liquide dans le tube capillaire prenant plus rapidement la température nécessaire et se refroidissant aussi rapidement lorsqu'on le plonge dans l'eau froide. Pour voir, si les spores peuvent encore germer, nous ensemençames la solution de Winogradsky avec le contenu du tube capillaire et en même temps avec une espèce aérobie du groupe des bactéries fluorescentes.

Les résultats ont été les suivants:

Tempér.		*Durée du chauffage.*	
75^0	—	5 heures	— la fermentation a commencé le même jour que dans le matras de contrôle.
„	—	10 heures	— la fermentation a retardé de trois jour.
„	—	15 heures	— de même.
90^0	—	15 min.	— la ferment. a commencé le même jour que dans le matras de contrôle.
„	—	30 min.	— la ferment. a retardé de 5 jours.
„	—	60 min.	— il n'y avait pas de fermentation (les spores sont tuées).
100^0	—	1 min.	— la ferment. a commencé le même jour que dans le matras de contrôle.
„	—	3 min.	— la ferment. a retardé de 13 jours.
„	—	5 min.	— il n'y avait pas de fermentation.

Le *Clostridium* supporte ainsi assez bien la température de 75^0; on peut, par conséquent, se servir d'une longue pasteurisation à cette température pour éliminer de la culture mixte les espèces étrangères sans spores.

Il était intéressant de voir comment se comportent les spores de *Clostridium*, si l'on les garde longtemps à l'état désséché à la température ordinaire. Pour cette expérience j'ai utilisé les restes des cultures de *Clostridium Pasteurianum* dont Winogradsky s'est servi dans ses recherches, notamment des morceaux de craie desséchés, restés au fond des matras de fermentation (№ 3 et 4 du 17 mai 1895). Ces restes desséchées ont été gardés pendant 20 ans au laboratoire dans l'armoire à la température ordinaire. A l'examen microscopique de la masse sèche il a été constaté beaucoup de spores typiques de *Clostridium*, entourées de capsules triangulaires. L'infection de la solution de Winogradsky avec ces restes (et en même temps avec le *Bac. fluorescens*) a provoqué une fermentation énergique, une germination rapide des spores et une multiplication du *Clostridium*. Pour constater, si le *Clostridium* a gardé après un temps si long ses caractères physiologiques, principalement

son pouvoir de fixer l'azote libre de l'atmosphère, a été faite une expérience spéciale, dont les résultats sont rapportés dans le tableau III.

Tableau III.

Milieu nutritif: Dextrose: 2 gr., solut. nutrit.: 100 cm. c.; craie. *Durée de l'expér.:* 18 jours. *Températ.:* 30°. *Quant. d'ac. titr.:* 20 cm. c. *Quant. d'azote* = differ. × 0,7. Cultures dans des fioles de Winogradsky avec 100 cm. de mil. nutrit.

Ens mencement (au mois de mai 1915).	Titre de l'acide après distillation de l'ammoniaque en cm. c.	Différence. par titrage.	Différence. aprés déduction de l'exp. de contr.	Gain total d'azote en mgr.	Gain d'azote en mgr. pour 1 gr. de dextrose décomp.	Observations.
Contrôle (sans ensemencem.).	19,3	0,7	—	—	—	Correction: 0,8.
	19,1	0,9	—	—	—	
Avec les restes de la culture № 3 du 17 mai 1895 contenant des spores + *Bac. fluorescens.*	15,1	4,9	4,1	2,87	1,44	Tout le sucre est décomposé.
	14,2	5,8	5,0	3,50	1,75	
Avec les restes de la culture № 4 du 17 mai 1895 contenant des spores + *Bac. fluorescens.*	14,9	5,1	4,3	3,01	1,50	
	14,9	5,1	4,3	3,01	1,50	
Avec la culture № 3, rajeunie par passage par le milieu de Winogradsky + *Bac. fluorescens.*	15,2	4,8	4,0	2,80	1,40	
	15,2	4,8	4,0	2,80	1,40	
Avec la culture № 4, rajeunie par passage par le milieu de Winogradsky + *Bac. fluorescens.*	15,0	5,0	4,2	2,94	1,47	
	14,2	5,8	5,0	3,50	1,75	

Les spores de *Clostridium*, qui ont été gardées à l'air à l'état désséché pendant 20 ans, ont ainsi conservé le caractère physiologique fondamental de l'espèce, le pouvoir de fixer l'azote libre. La grandeur de la fixation (environ 1, mgr. 5 pour 1 gr. de sucre décomposé), a été peu élevée, mais elle ne diffère pas trop des grandeurs obtenues par Winogradsky pour le *Clostridium* fraîchement isolé de la terre. Nous n'avons pas observé de différence entre les expèriences avec l'infection avec les

spores désséchées et celles avec l'infection avec des cultures rajeunies provenant de ces spores

En déterminant, comment le *Clostridium* agit sur différents hydrates de carbone et sur les alcools supérieurs, Winogradsky a constaté que l'action du microbe dépend dans ce cas de la source azotée dont on se sert. En présence de la peptone le *Clostridium* fait fermenter le dextrose, le saccharose, le lévulose, l'inuline, le galactose et la dextrine et n'agit pas sur le lactose, l'arabinose, l'amidon, la gomme, la mannite, la dulcite, la glycérine et le lactate de calcium; en présence du sulfate d'ammonium il ne fait fermenter que le dextrose, le saccharose et l'inuline.

Mais cette constatation ne peut pas être généralisée, car toutes les races de *Clostridium* ne se comportent pas de la même manière. C'est ainsi que la race isolée par Freudenreich (1) fait fermenter la mannite, le *Clostridium americanum* de Pringsheim (2), en outre, encore la glycérine, le lactose et l'amidon, et en présence des bactéries décomposant la cellulose, aussi les produits de la décomposition de la cellulose [Pringsheim (4)].

La question devient encore plus complexe, si l'on accepte le point de vue de Bredemann (1), qui a réuni dans l'espèce du *Bac. amylobacter* une série des bactéries butyriques qui se comportent differemment vis-à-vis des matières hydrocarbonées (v. tableau à la page 468 de son article).

On doit encore ajouter que l'on peut provoquer la fermentation d'une matière carbonée difficilement fermentescible par un changement correspondant de la composition du milieu nutritif, p. e. par l'addition des quantités peu considérables de dextrose et de matières azotées, par la quantité de matière dont on se sert à l'ensemencement etc.

On voit ainsi que les résultats des différents auteurs ne sont pas uniformes.

Quant à moi, j'ai déterminé comment agit un *Clostridium* isolé de la terre de Volhynie sur différentes combinaisons carbonées. Comme milieu nutritif a servi une solution minérale ordinaire, additionnée de 1% de matière carbonée à essayer. Dans une série d'expériences 0,1 p. 100 de phosphate d'ammonium a servi de source d'azote, dans une autre série l'azote était fourni par 0,1 p. 100 de peptone de Witte. Les expériences duraient un mois et ont été faites dans des ballons à haut col à 35°, les cultures furent additionnées de craie. Le résultat était quelque peu inattendu sous ce rapport que dans les deux séries d'expériences, c. a. d. en présence du sel ammoniacal et de la peptone les substances fermentescibles ont été les mêmes. J'ai essayé en tout 23 sub-

stances dont 10 se montrèrent fermentescibles (la fermentation commencé le 2ième—3ième jour).

Il y avait une fermentation	*Il n'y avait pas de fermentation*
Dextrose	Lactose
Lévulose	Arabinose
Saccharose	Arabine
Galactose	Gomme arabique
Maltose	Amidon
Raffinose	Ethylène-glycole
Dextrine	Erythrite
Inuline	Dulcite
Glycérine	Formiate de sodium
Mannite	Glycérinate de calcium
	Lactate de calcium
	Malate de calcium
	Tartrate de potassium

Le résultat obtenu diffère beaucoup des données obtenues par Winogradsky pour *Clostridium Pasteurianum* de Petrograd. Il suffit de dire que dans ces expériences seulement trois hydrates de carbone ont fermenté, tandis que dans nos expériences 10 ont fermenté. La fermentation la plus énergique a été dans les milieux avec du dextrose, du raffinose, de l'inuline et de la mannite. Une fermentation de force moyenne a été obtenue avec le saccharose, le maltose, la dextrine et la glycérine. Une fermentation faible a été observée dans le milieux avec du lévulose et du galactose. Les gaz dégagés par le ballon avec la glycérine ont été analysés. Il a été constaté 49% d'acide carbonique et 51% d'hydrogène. L'expérience quantitative, au point de vue de la fixation de l'azote, avec le dextrose, le galactose et le saccharose a donné 1, mgr. 3 à 1, mgr. 7 pour 1 gr. de matière hydrocarbonée décomposé.

Outre la composition du milieu, différentes autres conditions de l'expérience ont une influence sur la grandeur de la fixation de l'azote; l'exemple de l'influence de la température (tabl. I et II) nous l'a déjà montré. La hauteur de la couche de liquide, à l'ensemencement avec une culture mixte (*Clostridium* + microbe aérobic), ainsi qu'il suit des données du tableau IV (p. 218) n'a qu'une influence faible sur la grandeur de la fixation.

L'influence de la concentration du sucre sur la grandeur de la fixation de l'azote se manifeste d'une manière plus prononcée; on observe ici le même phénomène que chez l'*Azotobacter*: plus la concentration du sucre est forte, moins l'effet utile de la fixation de l'azote pour 1 gr. de sucre décomposé est élevé; les données du tableau V (p. 219) en témoignent.

Tableau IV.

Mil. nutrit.: Dextrose: 2 gr.; solut. minér.: 100 cm. c.; craie. *Durée de l'expér.:* 39 jours. *Tempér.:* 30⁰. *Quant. d'ac. titr.:* 20 cm. c. *Quantité d'azote* en mgr. = différence × 0,7. Cultures dans des fioles de Winogradsky.

Nature des cultures.	Volume du milieu nutrit. en cm. c.	Titre de l'acide après distillation de l'ammoniaque en cm. c.	Différence en cm. c. — par titrage.	Différence en cm. c. — après deduction de l'exp. de contr.	Gain total d'azote en mgr.	Gain de N en mgr. pour 1 gr. de dextrose décomposé.	Observations.
Contrôle.	100	18,8	1,2	—	—	—	Correction: 1, cm. c. 2.
Clostr. Past. IV + bac. D*).	100	12,8	7,2	6,0	4,20	2,10	Tout le sucre est décomposé.
	100	13,1	6,9	5,7	3,99	1,99	
	150	11,7	8,3	7,1	4,97	1,66	
	150	12,3	7,7	6,5	4,55	1,52	
	200	10,5	9,5	8,3	5,81	1,45	
	200	9,5	10,5	9,3	6,51	1,63	

*) *Cl. Past. IV* a été isolé de la terre de Volhynie; bac. D. est un bactérie fluorescente isolée d'une culture mixte du *Clostridium*.

A l'augmentation de la concentration de 2 fois la grandeur la fixation a diminué de 1 fois $^1/_2$; à l'augmentation de 6 fois la fixation a diminué de 2 fois $^1/_2$. Ce fait de la diminution de la productivité du travail du *Clostridium* avec l'augmentation de la concentration de la matière non azotée a été déjà constaté par Winogradsky, Pringsheim, M-me Ternetz, Bredemann et d'autres auteurs. Ainsi dans une expérience de Pringsheim, dans une solution de dextrose de 0,5 p. 100 il a été fixé pour chaque gramme décomposé 3, mgr. 2 de N; dans une solution de 2% 2 mgr. et dans une solution de 4% 1, mgr. 2.

Dans un autre article [Omeliansky (4)] j'ai déjà indiqué que la productivité du travail des bactéries fixant l'azote (d'un mélange de *Clostridium* et d'*Azotobacter*) varie au cours de la période de la fermentation et que les microbes fixent l'azote de la manière la plus productive durant les premiers stades du processus, durant la période de la plus forte multiplication des cellules. Dans la suite la grandeur relative de la fixation diminue rapidement. Le même fait a été constaté par Bredemann par rapport à la culture pure du *Clostridium*, mais il l'exprime sous une autre

forme. Il affirme notamment que le gain relatif d'azote augmente avec la diminution du pourcentage de sucre fermenté (dans les mêmes conditions de composition et de concentration du milieu, de la température etc.). Il est possible que l'on doit chercher la cause de ce phénomène dans l'enrichissement graduel du milieu nutritif de produits de dissimilations qui agissent d'une manière nuisible sur le travail du *Clostridium.*

Tableau V.

Nature des cultures: Clostrid. de Volhyn. + bac. D. *Mil. nutrit.:* Solut minér.: 100 cm. c. craie et quantités de dextrose indiquées dans la première colonne du tableau. *Durée de l'expér.:* 25 jours. *Températ.:* 28°. *Quant. d'ac. titr.:* 20 cm. c. *Quantité d'azote* en mgr. = différ. × 0,714. Cultures dans des fioles de Winogradsky avec 100 cm. c.

Quant. de dextrose addit. en mgr.	Titre de l'acide après distillation de l'ammoniaque en cm. c.	Différence en cm. c.		Gain total d'azote en mgr.	Gain d'azote pour 1 gr. de dextrose décomp.	Observations.
		par titrage.	après déduction de l'exp. de contr.			
0	16,8	3,2	—	—	—	Les fioles n'ont pas été infectées. La moyenne de deux expér. (3, cm. 3) sert de contrôle.
0	16,5	3,5	—	—	—	
0,5	13,5	6,5	3,2	2,28	4,56	Tout le sucre est décomp.
1	11,9	8,1	4,8	3,43	3,43	
1	12,3	7,7	4,4	3,14	3,14	
3	8,6	11,4	8,1	5,78	1,93	

Nous avons déjà vu que la fermentescibilité de différentes matières carbonées dépend de la nutrition azoté du *Clostridium* (expériences de Winogradsky). Les conditions de la nutrition azotée doivent, naturellement, retentir aussi sur le travail de la fixation de l'azote. Pourtant, du fait que l'addition de matières azotées facilite la fermentation il ne suit pas que parallélement a lieu aussi une augmentation de la fixation de l'azote; le contraire arrive aussi. Si la présence dans le milieu des quantités insignifiantes d'azote lié augmente la fixation de l'azote ou ne l'influence pas, l'augmentation plus forte de la teneur en matières azotées diminue la fixation et ensuite l'arrête tout à fait. Dans une des expériences de Winogradsky l'addition de 2, mgr. 1 d'azote ammoniacal n'a pas eu d'influence sensible sur la grandeur de la fixation. A l'augmentation de la dose d'azote de 4 fois, la gain d'azote a diminué de 2 fois, à l'aug-

mentation de la dose d'azote de 8 fois la fixation a été complétement paralysée.

Cette expérience et une série d'autres amènent Winogradsky à la conclusion que la fixation d'azote s'arrête, lorsque le rapport de la quantité initiale d'azote lié dans le milieu et du sucre atteint en chiffres ronds la grandeur de 6 : 1000.

Dans les expériences de Bredemann l'addition au milieu de l'azote lié dans des formes différentes n'a pas donné de résultats aussi nets que dans celles de Winogradsky; c'est pourquoi il est difficile de faire en se basant sur ses expériences une conclusion déterminée.

Tableau VI.

Milieu nutrit.: Dextrose: 2 gr.; solut. minér.: 100 cm. c., craie et nombre de mgr. d'azote cont. dans le sel ammoniacal et indiqué dans la deuxième colonne. *Durée de l'expér.*: 28 jours. *Températ.:* 25°. *Correction:* 4 cm. c. *Quant. d'azote* en mgr. = differ. × 0,714. Cultures dans des fioles de Winogradsky avec 100 cm. c. de mil. nutrit.

Nature des cultures.	Solution addit de sulfate d'ammon. à 2% (nombre de cm. c.).	Quantité de l'acide titré.	Titre de l'acide après distillation de l'ammoniaq. en cm. c.	Différence en cm. c.		Gain total d'azote en mgr.	Gain d'azote après déduction de N addit. sous forme de sel ammoniac.	Gain de N en mgr. pour 1 gr. de dextrose décomposée.
				par titrage.	après déduction de l'exp. de contr.			
Contrôle	0	20	16,1	3,9	—	—	—	—
Contrôle	0	20	16,0	4,0	—	—	—	—
Clostridium de Volhynie + bac. D.	0	20	9,8	10,2	6,2	4,43	—	2,21
	0	20	9,7	10,3	6,3	4,50	—	2,25
	1 cm. c. = 3, mgr. 11 de N	20	4,6	15,4	11,4	8,14	5,03	2,51
		20	4,8	15,2	11,2	8,00	4,89	2,44
	5 cm. c. = 15, mgr. 55 de N	40	11,5	28,5	24,5	17,49	1,94	0,97
		40	10,5	29,5	25,5	18,21	2,66	1,33
	10 cm. c. = 31, mgr. 13 de N	60	9,6	50,4	46,4	33,13	2,00	1,00
		60	10,2	49,8	45,8	32,70	1,57	0,78

Dans toutes les fioles la fermentation a commencé au cours d'un intervalle d'une semaine.

Le liquide dans les fioles s'est colorée en jaune à l'addition du sel ammoniacal, d'une manière particulièrement intense à une teneur élevée en sel ammoniacal.

J'ai fait plusieurs expériences en ajoutant à la solution nutritive de Winogradsky différentes quantités de sulfate d'ammonium, d'asparagine et de peptone. Toutes les cultures ont été ensemencées avec un mélange de *Clostridium* de Volhynie (*Cl. Past. IV*) et d'une bactérie du fluorescente („bac. D"). Les résultats des expériences avec l'addition du sulfate d'ammonium sont rapportés dans le tableau VI.

Nous voyons que l'addition de 1, mgr. 5 d'azote ammoniacal pour 1 gr. de dextrose n'a pas eu d'influence sensible sur la grandeur de la fixation (la petite augmentation par rapport à l'expérience de contrôle se trouvé dans les limites d'erreures de l'expérience).

Tableau VII.

Nature des cultures: Clostr. de Volhyn. + bac. D. *Mil. nutrit.:* Dextrose : 2 gr.; sol minér.: 100 cm. c., craie; quantités d'asparagine et de peptone indiquées dans la première colonne. *Durée de l'expér.:* 30 jours. *Températ.:* 25⁰. *Quant. d'ac. titré:* 20 cm. c. Cultures dans des fioles de Winogradsky avec 100 cm. c. de mil. de nutrit.

Quant. d'asparagine et de peptone addit.	Titre de l'acide après distillation de l'ammoniaque en cm. c.	Différence en cm. c. — par titrage.	Différence en cm. c. — après déduction de l'exp. de contr.	Gain total d'azote en mgr.	Gain d'azote après déduction de N de l'aspar. et de la pept.	Gain d'azote en mgr. pour 1 gr. de dextrose décomposé.	Observations.
0	16,5	3,5	—	—	—	—	Contr. Correction: 3, cm. c. 5.
0	9,9	10,1	6,6	4,71	—	2,35	Tout le sucre est décomposé.
0	9,7	10,3	6,8	4,85	—	2,42	
Asparagine. 0, cm. c. 5 = 0, mgr. 93 de N	7,9	12,1	8,6	6,14	5,21	2,60	
Asparagine. „	8,1	11,9	8,4	6,00	5,07	2,53	
Asparagine. 1 cm. c. = 1, mgr. 86 de N	6,6	13,4	9,9	7,07	5,21	2,60	
Asparagine. 5 cm. c. = 9, mgr. 28 de N	0,2	19,8	16,3	11,64	2,36	1,18	
Peptone. 0, cm. c. 5 = 0, mgr. 74 de N	8,3	11,7	8,2	5,86	5,12	2,56	
Peptone. „	8,7	11,3	7,8	5,57	4,83	2,41	
Peptone. 1 cm c. = 1, mgr. 49 de N	7,8	12,8	8,7	6,21	4,72	2,36	
Peptone. 5 cm. c. = 7, mgr. 42 de N	0,1	19,9	16,4	11,71	4,29	2,14	

L'augmentation plus forte de la teneur en azote (environ 8 mgr. par gramme de sucre) a diminué la grandeur de la fixation plus de deux fois. A l'augmentation de la teneur en azote ammoniacal jusqu'à 16 mgr. il n'a pas été constaté plus de diminution sensible de la fixation. Le résultat avec le *Clostridium* de Volhynie se distingue, comme nous voyons, d'une manière assez sensible du résultat que Winogradsky a obtenu avec le *Clostridium* de Petrograd. Chez Winogradsky il n'y avait plus de fixation, lorsque l'azote et le sucre se trouvaient en proportion de 6 : 1000, dans nos expériences il y avait une fixation même à une proportion de 16 : 1000.

Dans le tableau VII sont rapportés les résultats des expériences avec l'addition au milieu de l'asparagine et de la peptone (p. 221).

Ici aussi l'addition de 1, mgr. 5 d'azote contenu dans l'asparagine ou la peptone n'a pas eu d'influence sur la grandeur de la fixation, et l'augmentation plus forte de la dose de l'azote organique a diminué sensiblement la fixation, surtout dans les fioles avec de la peptone.

Pour l'*Azotobacter* il est prouvé que l'addition de substances colloïdales au milieu, en particulier de sels de l'acide humique, augmente considérablement la fixation de l'azote. J'ai répété cette expérience avec le *Clostridium* en ajoutant au milieu des humates et pectates de sodium. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau VIII (p. 223).

Le résultat obtenu a été contradictoire; tandis que le pectate de sodium a augmenté légèrement la grandeur de la fixation, le sel de l'acide humique l'a sensiblement diminuée. Il est possible que ce résultat s'explique par le fait que la concentration chosie du dernier sel ne convient pas au microbe ou par les particularités de la préparation (de la maison Merck) qui a été prise pour l'expérience.

Winogradsky a déjà indiqué que l'addition de la craie au milieu sert à la neutralisation des acides qui se forment à la décomposition du sucre. Le choix du carbonate dans ce cas n'est pourtaut pas indifférent. Les expériences comparatives avec le carbonate de magnésie ont montré que ce sel est moins favorable au développement du *Clostridium*. Winogradsky a incorporé au milieu aussi, outre le phosphate de potassium et le sulfate de magnésie, encore des petites quantités de chlorure de sodium et de sulfates de l'oxydule de fer et de manganèse. Dans mes expériences avec le *Clostridium* de Volhynie l'addition de chlorure de sodium dans la concentration correspondant à celle du sel marin, a gêné le développement du *Clostridium* et la fixation de l'azote : tandis que dans les deux vases de contrôle (sans chlorure de sodium) la fixation de l'azote a atteint 2, mgr. 3 à 2, mgr. 7 pour 1 gramme de dextrose décomposé, dans les vases avec 3 à 4% de NaCl on n'a observé ni développement de *Clostridium*, ni fixation d'azote. Au contraire, le

Tableau VIII.

Nature des cultures: Clostrid. de Volhyn. + bac. D. *Solut. nutrit.:* Dextrose: 2 gr.; solut. minér.: 100 cm. c., craie, quant. de sels sodiques (humates et pectates) indiquées dans la première colonne. *Durée de l'expér.:* 11 jours. *Tempér.:* 28°. *Quant. d'azote* en mgr. = différence × 0,714. Cultures dans des fioles de Winogradsky avec 100 cm. c. de mil. nutrit.

Quant. de sels sodiques (humates et pectates) addit.	Titre de l'acide: avant	Titre de l'acide: après	Différence en cm. c.: par titrage	Différence en cm. c.: après déduction de l'expér. de contr.	Gain total d'azote en mgr.	Gain d'azote en mgr. pour 1 gr. de dextrose décomp.	Observations.
Sans addit.	20	16,0	4,0	—	—	—	Les fioles n'ont pas été infectées. Servent de correction (4 cm. c.) par rapport aux deux fioles suivantes.
	20	15,9	4,1	—	—	—	
	20	7,4	12,6	8,6	6,14	3,07	
	20	7,4	12,6	8,6	6,14	3,07	
Il a été ajouté 5 cm. c. de solut. *Na pect.* *) pour 100 cm. c. de liquide.	30	19,6	10,4	—	—	—	La fiole n'a pas été infectée. Sert de correction par rapport aux deux fioles suivantes.
	30	9,1	20,9	10,5	7,50	3,75	Fermentation très énergique.
	30	9,9	20,1	9,6	6,85	3,42	
Il a été ajouté 5 cm. c. de solut. *Na hum.* *) pour 100 cm. c. de liquide.	30	16,0	14,0	—	—	—	La fiole n'a pas été infectée. Sert de correction par rapport aux deux fioles suivantes.
	30	9,5	20,5	6,5	4,64	2,32	Fermentation très énergique.
	30	8,7	21,3	7,3	5,21	2,60	

*) Les solutions de deux sels ont été préparées de la manière suivante: on ajoutait 5 gr. d'*Ac. huminicum* (resp. *Ac. pectinicum*) à 100 cm. c. d'une solution de soude caustique à 1%, on chauffait pendant 30 minutes à l'autoclave à 106°. On filtrait le liquide qui contenait un dépôt, et le filtrat servait à l'expérience.

Clostridium trouvé par Issatchenko dans la vase marine de l'Océan Arctique s'est adapté, évidemment, à la vie dans des concentrations de l'eau de mer: il ne se développait dans les solution diluées ordinaires et n'a pu être isolé dans ces milieux.

En ce qui concerne l'addition des sels de fer à la solution, les résultats ne sont pas non plus uniformes: dans les expériences de Prings-

heim (2) *Clostridium americanum* se développe mieux sans sels de fer qu'en présence de ces sels.

Nous avons déjà vu [Omeliansky (2)] que *Azotobacter*, ainsi que les bactéries des nodosités des légumineuses, perd peu à peu le pouvoir de fixer l'azote libre dans le cas où cette espèce est cultivée pendant un temps assez long sur des milieux artificiels. *Clostridium Pasteurianum*, comme organisme sporulant, prèsente sous ce rapport des avantages incontestables, car en formant dans des conditions défavorables des spores, il peut garder plus longtemps non altérées ses propriétés physiologiques. Les données du tableau III peuvent servir pour éclairer ce problème. Pourtant Winogradsky a déjà constaté que chez ce microbe aussi on observe des signes de dégénérescence. Dans certains cas il était obligé de rejeter les races dégénérées de *Clostridium* et de les remplacer par des races fraîchement isolées de la terre.

D'après les données de Pringsheim (2), une longue culture sur des milieux azotées, p. e., sur la pomme de terre présente une des causes qui favorisent la dégénérescence du *Clostridium americanum*. Dans les expériences de Bredemann, le *Clostridium* cultivé pendant 9 mois sur la gélose ordinaire (avec de la viande et de la peptone) ne se développait plus sur des milieux non azotée. Le pouvoir de fixer l'azote ne se perd pas chez toutes les races avec la même rapidité. Plusieurs races ont gardé leurs propriétés non altérées même après deux ans, tandis que dans d'autres cas, au contraire, le pouvoir fixateur d'azote se perdait complétement aprés plusieurs reensemencements sur la gélose sucrée. Pour infecter avec des telles cultures atténuées, il fallait se servir à l'ensemencement de grandes quantités de culture et cependant l'ensemencement ne réussissait pas toujours.

Chez le *Clostridium* dégénéré le pouvoir de fixer l'azote peut être régénéré. Pour cela Pringsheim (2) traitait les cultures de la manière suivante. Il infectait avec des cultures de *Clostridium americanum*, atténuées par une longue culture sur la pomme de terre, la solution de Winogradsky additionnée d'une quantité de sulfate d'ammonium dont l'azote ne suffit pas pour faire fermenter tout le sucre. La fermentation de cette culture intermédiaire terminée, on s'en servait pour l'ensemencement du milieu non azotée de Winogradsky; cette fois la fermentation se faisait d'une manière normale et était accompagnée de la fixation de l'azote. Une telle culture rajeunie pouvait être maintenue dans une série de générations.

Pour la régénération du pouvoir fixateur d'azote Bredemann a appliqué la méthode de culture de passage par le sol (Bodenpassagecultur), c. a. d., le retour temporaire du microbe dans son milieu naturel. On prend de la terre de jardin grasse, on la tamise par un

tamis fin et on remplit des tubes à essais jusqu'à la hauteur de 5 cm. On verse un peu d'eau pour rendre la terre un peu humide et on stérilise les tubes à 150° pendant 45 minutes. Après avoir contrôlé la stérilité de la terre par l'ensemencement du bouillon ordinaire et de la solution de Winogradsky, on ensemence la terre abondamment avec une culture atténuée de *Clostridium* (avec une émulsion d'une culture fraîche sur gélose sucrée). Des tubes à essais pareils sont placés pour plusieurs semaines ou mois: les uns à la température ordinaire dans des conditions aérobies, les autres pendant un mois dans le vide à 28° et pendant le temps qui reste à l'accés libre de l'air, à la température ordinaire. Pendant ce temps la terre se dessèche complètement. On ensemence un tube à essai contenant une couche de 7 cm. de solution de Winogradsky avec 2 grammes environ de terre. Habituellement, on constate déjà, 12 heures après, une fermentation énergique qui atteint son maximum 36 heures après. Les microbes de ce tube manifestent à l'ensemencement un pouvoir fixateur des cultures fraîchement isolées de la terre. Cette méthode longue et complexe de rajeunissement des cultures par passage par la terre s'est montrée toujours bonne pour la régénération complète du pouvoir fixateur disparu. La méthode simplifiée qui consiste dans l'addition de 1 à 2 gr. de terre stérilisée à la solution non azotée qui remplit le tube à essai jusqu'à la hauteur de 6 à 8 cm. est moins sûre.

Ainsi que l'ont montré les recherches de Winogradsky, *Clostridium Pasteurianum* est un ferment butyrique typique. En décomposant différents hydrates de carbone il produit de l'acide butyrique normale, de l'acide acétique, des traces d'acide lactique et de plusieurs alcools (éthylique, propylique, butylique) et des produits gazeux, de l'hydrogène et de l'acide carbonique. Les proportions dans lesquelles se forment les différents produits varient de l'expérience à l'expérience, sans présenter de lien régulier avec la composition du milieu qu'il soit non azoté ou qu'il contienne de l'azote lié (du sel ammoniacal, de l'asparagine ou de la peptone).

Bredemann qui a eu à sa disposition plusieurs dizaines de *Clostridium* d'origine différente a essayé de trouver des points d'appui pour les délimiter par l'étude des produits qu'ils forment. Mais, malgré les nombreuses expériences qu'il a faites, il n'a pas obtenu de résultats qui auraient pu être généralisés: la composition et les quantités relatives d'acides volatils, d'alcools différents et de produits gazeux varient non seulement d'une race à l'autre, mais aussi d'une expérience à l'autre. Néanmoins certains auteurs se servent de ce caractère. Ainsi, suivant Pringsheim, *Clostridium americanum* décompose plus lentement les hydrates de carbone que *Clostridium Pasteurianum* et forme dans ce cas plus de produits gazeux.

Suivant les données de Bredemann, le *Clostridium* ne peptonise pas la caséine coagulée, ne détache pas ammoniaque de la peptone et ne reduit pas les nitrates. Mais ici il ne s'agit que de caractères négatifs. Le chimisme de notre microbe est, par conséquent, étroitement limité, et les processus les plus caractéristiques de son biochimisme présentent d'une part, le résultat de son pouvoir de fixer l'azote, d'autre part, de sa propriété de provoquer la fermentation butyrique

Tableau IX.

Mil. nutrit.: Dextrose: 2 gr.; sol. minér.: 100 cm. c.; craie. *Durée de l'expér.:* 28 jours. *Températ.:* 30⁰. *Quant d'ac. titr.:* 20 cm. c. *Quant. d'azote* en mgr. = différence × 0,7. Cultures dans des fioles de Winogradsky avec 100 cm. c. de mil. nutrit.

Nature des cultures.	Titre de l'acide après distillation de l'ammoniaque en cm. c.	Différence en cm. c. par titrage.	Différence en cm. c. après déduction de l'expér. de contr.	Gain total d'azote en mgr.	Gain d'azote en mgr. pour 1 gr. de dextrose décomp.	Observations.
Contrôle	15,2	4,8	—	—	—	Correction: 4, cm. c. 8.
	15,1	4,9	—	—	—	
Bacille du rouissage de lin isolé par tribes du lin belge + bac. D.	10,0	10,0	5,2	3,64	1,82	Fermentation beaucoup plus lente que dans les 4 fioles avec le *Clostridium.* Le sucre a disparu un mois après l'ensemencement.
	9,2	10,8	6,0	4,20	2,10	
	10,1	9,9	5,1	3,57	1,78	
	10,2	9,8	5,0	3,50	1,75	
Clostridium Past. II + бац. D.	8,3	11,7	6,9	4,83	2,41	Fermentation énergique pendant tout le temps Le sucre a disparu 18 jours après l'ensemencement.
	7,9	12,1	7,3	5,11	2,55	
	7,5	12,5	7,7	5,39	2,69	
	8,4	11,6	6,8	4,76	2,38	

Pour conclure deux mots au sujet du travail de Bredemann dans lequel il réunit dans une espèce commune le *Bac. Amylobacter*, les différentes bactéries butyriques. Sans parler de son idée, qu'on ne peut nullement trouver heureuse, de resusciter le vieux nom d'*Amylobacter* au lieu du *Clostridium Pasteurianum* proposé par Winogradsky, il nous semble que Bredemann n'a pas raison dans sa tendance de niveler tout. Il est vrai que la classification des bactéries du groupe butyrique se trouve

dans un état assez triste, que la délimitation des espèces est ici plus difficile que partout ailleurs, mais cela ne nous donne pas droit de négliger les caractères peu nombreux, qu'il ne soient que morphologiques, qui peuvent servir d'appui pour la délimitation des espèces. Néanmoins, Bredemann a incontestablement raison, lorsqu'il affirme que la fonction de fixer l'azote est très répandue dans le groupe des bactéries butyriques. De mes observations je veux citer une expérience de la détermination comparative de la fixation de l'azote, d'un côté, par un *Clostridium (Cl. Past. II)* isolé de la terre de Volhynie, d'autre côté, par le bacille du rouissage du lin isolé pas Fribes du lin belge (tabl. IX, p. 226).

Si le *Clostridium* a fixé des quantités d'azote plus considérables, l'agent de la fermentation pectique (le bacille du rouissage du lin) a fixé aussi des quantités assez élevées de cet élement, c'est pourquoi cette espèce peut avec raison être placée dans le groupe des bactéries fixatrices d'azote.

Bibliographie.

Bredemann (1). Bacillus amylobacter A. M. et Bredemann, *Centralbl. f. Bakt.*, 2 Abt., t. 23, p. 385, 1909.

Freudenreich (1). Über stickstoffbindende Bakterien, *Centralbl. f. Bakt.*, 2 Abt., t. 10, p. 514, 1903.

Issatchenko (1). Recherches sur les microbes de l'Océan Glacial arctique. Travaux de l'Expédition Scientifique pour l'exploration des pêcheries de la côte Mourmane, 1914.

Omeliansky, V. et M-lle Solounskoff (1). Sur la distribution des bactéries azotofixatrices dans les sols russes. *Ces Archives*, t. 18 p. 459, 1915.

Omeliansky (2). Sur la physiologie et la biologie des bactéries fixant l'azote. Art. prem. *Ces Archives*, t. 19, p. 166. 195.

(3) Sur l'emploi dans la pratique agricole des microbes fixateurs d'azote, vivant librement dans la terre. *Journal de microbiologie* t. 2, p. 125. 1915.

(4) Sur les rapports entre la fixation de l'azote et la dépense en substance organique non azotée chez les bactéries fixant l'azote. *Ces Archives*, t. 18 p. 327 1914.

Pringsheim (1). Über ein stickstoffassimilierendes Clostridium, *Centralbl. f. Bakt.*, 2 Abt., t. 16, p. 795, 1906.

(2) Über die Verwendbarkeit verschiedener Energiequellen zur Assimilation des Luftstickstoffs und die Verbreitung stickstoffbindender Bakterien auf der Erde, *ibid.*, t. 20, p. 248, 1908.

(3) Über die Sauerstoffbedürfnisse anaerober Bakterien, *ibid.*, t. 21, p. 673, 1908.

(4) Über die Verwendung von Cellulose als Energiequelle zur Assimilation des Luftstickstoffs, *ibid.*, t. 23, p. 300, 1909.

Ternetz (1). Über die Assimilation des atmosphärischen Stickstoffs durch Pilze, *Jahresb. f. wiss. Botanik*, t. 44, p. 353, 1907.

Winogradsky (1). Recherches sur l'assimilation de l'azote libre de l'atmosphère par les microbes. *Ces Archives* t. 3, p. 297, 1895.

(2) Clostridium Pasteurianum, seine Morphologie und seine Eigenschaften als Buttersäureferment, *Centralbl. f. Bakt.*, 2 Abt., t. 9, p. 43, 1902.

Recherches sur les ferments du sérum et des organes des animaux auxquels on a introduit des parties composantes du bacille tuberculeux, des produits d'hydrolyse de ce bacille et aussi des bacilles tuberculeux vivants.

Par **M-mes A. Borissiak** et **N. Sieber-Schoumow.**

(Laboratoire de Chimie de l'Institut Impérial de Médecine expérimentale)

Dans la présente communication nous avons l'intention de résumer une partie des données se rapportant aux recherches qui ont été effectuées pendant toute une série d'années au Laboratoire de Chimie à l'Institut de Médecine Expérimentale. Ces recherches se rapportent à l'immunité et à d'autres questions liées à ce problème. Dans le présent travail nous résumons les recherches concernant les processus fermentatifs ayant lieu dans le sérum du sang et dans les organes de grands animaux après l'introduction dans le corps de ces animaux des principes, en partie, d'origine bactérielle (du bacille de la tuberculose), en partie, des produits de dédoublement hydrolytique des bactéries.

Il existe un nombre suffisant de travaux qui ont pour but d'élucider le lien entre différentes intoxications et infections, d'un côté, et les processus fermentatifs, d'autre côté. Le problème du lien entre les infections et les enzymes a été traité par une de nous, il y a plusieurs années, dans une communication au congrès de médecine à la mémoire de Pirogov en 1911.

Depuis ce temps là, une série de travaux a été effectuée dans notre Laboratoire; parmi ces travaux citons ceux d'Alechine[1]), Grossman[2]),

1) B. Alechine, Thèse, Petrograd 1912.
2) E. Grossman, Thèse, Petrograd 1911.

Grinev[1]), Maroutaïev[2]), Timochok[3]), Kotchnev[4]), Wolter[5]), Pisniatchevsky[6]) qui sont, en partie, de caractère expérimental ou présentent des recherches ou des observations concernant des maladies infectieuses aigües ou chroniques et surtout la tuberculose. Nous ne voulons pas nous occuper ici de la bibliographie du problème général du lien entre différentes infections et les processus fermentatifs; pour notre but, il nous suffit de citer quelques uns des résultats des travaux se rapportant à la tuberculose.

En faisant des expériences sur des cobayes, Grinev a établi que l'infection tuberculeuse provoque des changements essentiels dans le travail des ferments. Il a constaté, entre autres, que certains ferments présentent des déviations caractéristiques par rapport à la norme; c'est ainsi par exemple, que l'action du ferment lipolytique, de la lipase, s'abaisse en lien avec le degré et la force du processus tuberculeux non seulement dans le sérum, mais aussi dans les organes; on observe des déviations fortement prononcées dans les organes les plus importants. M-lle Kotchnev, qui a étudié l'influence de l'introduction de bacilles tuberculeux tués dans la cavité péritonéale d'animaux d'expériences sur les processus fermentatifs, a obtenu des résultats qui indiquent que dans ce cas ont lieu des phénomènes identiques à ceux que l'on observe à l'infection tuberculeuse avec cette différence, que ces phenomènes se manifestent dans ce cas d'une manière moins prononcée et ont un caractère passager. B. Wolter a déterminé par voie optique le pouvoir nucléolytique du sérum; il a constaté un pouvoir exalté chez des personnes atteintes de différents stades de tuberculose et aussi chez des cobayes infectés avec la tuberculose par voie expérimentale. Les résultats obtenus par l'auteur ont été pleinement confirmés par des observations, qui ont été faites à l'aide d'autres méthodes, notamenent des méthodes chimiques, p. e. en déterminant (par la méthode de Neumann) le phosphore qui est détaché du nucléate de sodium sous l'influence du ferment nucléolytique. Pisniatchevsky qui a étudié aussi le sérum chez des personnes atteintes de tuberculose a confirmé ces résultats. Ces recherches ont en outre, montré que chaque stade de la maladie est caractérisé, parait-il, par un index lipolytique et antitryptique déterminé. Il a été établi ensuite que les changements de ces deux fonctions (lipolytique et antitryptique) peuvent servir pour nous éclairer sur le pronostic de la maladie; en ce

1) D. Grinev, Arch. d. Sciences Biolog., t. XVII 1911.
2) Maroutaiev, Thèse, Petrograd 1912.
3) Timochok, Thèse, Petrograd 1912.
4) Kotchnev, Arch. d. Sciences Biolog., t. XVIII 1914.
5) B. Wolter, Thèse, Petrograd 1913.
6) B. Pisniatchevsky, Thèse, Petrograd 1914.

qui concerne la lipase cette constatation a été déjà faite par différents auteurs français, notamment par Carrière[1]), Clerc[2]), Garnier[3]) et d'autres.

Parallélement aux recherches des auteurs indiqués plus haut, nous avons continué des expériences que nous avons commencées depuis longtemps sur des animaux: sur des chèvres, des boucs, des moutons et des brebis. On introduisait à ces animaux par des voies différentes et dans différentes combinaisons, d'un côte, les parties composantes du bacille tuberculeux: la cire, la tuberculine, des bacilles tuberculeux dégraissés, d'autre côté, des lipoides, du nucléate de sodium et enfin des produits d'hydrolyse du bacille tuberculeux, pour établir quels sont les substances qui provoquent des déviations par rapport à la norme dans le travail de tel ou tel ferment et quels substances sont indifférentes sous ce rapport. Ces principes ont été injectés à des animaux sains, de même qu'à des animaux qui recevaient, en outre, des bacilles tuberculeux vivants.

Les animaux d'expériences se trouvérent sous notre observation un temps assez long: quelques uns pendant 3 à 4 ans, d'autres moins longtemps. Pour étudier le sérum, on prélevait aux animaux périodiquement, suivant le mode de l'expérience, du sang à la veine jugulaire. Pour obtenir du sérum on laissait reposer le sang d'abord à 37⁰,5, puis à froid. En vue de contrôle on a saigné à blanc plusieurs animaux; les organes de ces animaux furent séchés dans un appareil avec un ventilateur électrique et puis examinés au point de vue de leur pouvoir fermentatif. Pour permettre au lecteur de se mieux orienter, nous avons réuni les résultats de nos expériences en groupes et sousgroupes. Les chiffres obtenus sont groupés sous forme de tableaux.

Les substances injectées ont été préparées de la manière suivante.

Emulsion de cire tuberculeuse.

On broie dans un mortier stérile 0, gr. 1 de cire tuberculeuse avec 0, gr. 05 de carbonate de soude en ajoutant par gouttes 100 cm. c. d'eau chaude stérilisée; on broie jusqu'à la formation d'une émulsion opalescente de couleur jaune uniforme qui ne se divise pas en couches après refroidissement.

Pour préparer des émulsions plus diluées à 1 : 10.000 et à 1 : 100.000 on agitait 1 cm. c. de l'émulsion à 1 : 1000 avec 9 cm. c. ou 99 cm. c. d'eau stérile.

---

1) Carrière, C. R. Soc. Biol., t. 51 1899.
2) Clerc, Thèse, Paris 1902.
3) Garnier Charles, C. R. Soc. Biol., t. 55 1903.

Emulsion de lécithine.

2 gr. de Lecitin-Ovo puriss. (de la maison Merck) ont été pesés dans un petit ballon stérilisé; on y ajoutait peu à peu en agitant 100 cm. c. d'eau chaude stérilisé. On agitait jusqu'à ce que toute la lécithine fût emulsionnée. Nous avons employé aussi une émulsion de lécithine à 10 % dans l'huile d'olive mise aimablement à notre disposition par la maison Clin de Paris; nous exprimons aussi à cette place nos remerciements à la maison Clin.

Enfin nous nous sommes servi de la préparation Ovo Lecitin Billon d'après S. Nerking de la maison Poulin Frères Paris.

Emulsion de bacilles tuberculeux vivants.

A cet effet des cultures sur pomme de terre de 3 à 4 semaines ont été employées. A l'aide d'une spatule de platine (de largeur de 3 à 4 mm.) flambée et refroidie on transporte dans un bocal stérilisé une couche de culture tuberculeuse que l'on broie avec une baguette de verre stérile jusqu'à ce que la culture prenne la consistance de pommade. On ajoute par goutte en remuant de l'eau physiologique de NaCl: pour 2 à 4 spatules de platine 10 cm. c. suivant la concentration que l'on veut obtenir.

Produits de décomposition hydrolytique de bacilles tuberculeux.

Ces produits ont été obtenus par l'action de l'eau oxygénée à l'autoclave à une température élevée sous la pression de 3 atmosphères[1]). Suivant la durée de chauffage et la teneur en bacilles tuberculeux, en eau oxygénée et en eau on obtenait des produits d'hydrolyse plus ou moins profonde. Pour ces expériences on se servait de cultures virulentes de tuberculose bovine et humaine dans du bouillon de viande de veau. Les voiles de ces cultures furent portés sur des filtres, lavés à l'eau et puis séchés à l'air sous des cloches de verre. Les bacilles tuberculeux séchés ainsi ont été chauffés à l'autoclave sous la pression de 3 atmosphères dans des conditions différentes en ce qui concerne la teneur en H_2O_2 et en eau et la durée de chauffage.

Les préparations suivantes ont été injectées aux animaux:

1) N. Sieber-Schoumov, Roussky Vratch № 30, 1912.
N. Sieber, Centralbl. für Bakt., t. 64, 1912.
N. Sieber, Zeitschr. f. physiol. Chem., t. 81, 1912.

№ 1. 0, gr. 5 de bacilles tuberculeux, solution d'eau oxygénée à $1^1/_2$ p. 100 dans la proportion de 1 : 300. Chauffage durant 5 minutes sous la pression de 3 atmosphères.

№ 2. La même quantité de bacilles tuberculeux, eau et eau oxygénée dans les mêmes proportions. Chauffage durant 10 minutes sous la pression de 3 atmosphères.

№ 3. La même préparation. Chauffage durant 30 minutes sous la pression de 3 atmosphères.

№ 4. 1 gr. de bacilles tuberculeux séchés à l'air, solution d'eau oxygénée a $1^1/_2$ p. 100 dans le proportion de 1 : 300. Chauffage durant 2 heures sous la pression de 3 atmosphères.

Technique.

Nous avons employé les méthodes suivantes pour la détermination du pouvoir fermentatif: la nucléase a été déterminée par voie optique à l'aide de l'appareil polarisateur de la maison Schmitt et Hensch avec une lampe de Nernst pour l'éclairage du champ de vision. L'amylase et l'antitrypsine ont été déterminées d'après la méthode de Wohlgemuth. La lipase a été déterminée par titrage.

Explication des chiffres dans les tableaux.

Pour la lipase les chiffres désignent le nombre de cm. c. d'une solution de KOH de $^1/_{100}$ N qui ont été nécessaires pour la neutralisation de l'acide détaché après l'action du ferment.

Pour l'amylase les chiffres désignent le nombre de cm. c. d'une solution d'amidon à 1 $^0/_0$ transformé par l'action du ferment en erythrodextrine.

Pour la nucléase les chiffres désignent la différence (en degrès) entre l'angle de déviation du plan de polarisation dans une solution de nucléate de sodium avant et après l'action du ferment.

Pour l'antitrypsine les chiffres désignent le nombre d'unités d'énergie antitryptique, calculée d'après le coefficient de Jacob.

Répartition des animaux par groupes.

Ier groupe.

Le Ier groupe comprend les animaux qui ont reçu des parties composantes de bacilles tuberculeux.

Ce groupe renferme 4 sousgroupes: a, b, c et d.

a) Ce sousgroupe renferme les animaux auxquels on a injecté de la cire tuberculeuse ou de la cire avec de la lécithine en huile.

b) Les animaux de ce sousgroupe ont reçu de la cire tuberculeuse et des bacilles tuberculeux dégraissés.

c) A ce sousgroupe appartiennent les animaux qui ont reçu de la tuberculine.

d) A ce sousgroupe appartiennent les animaux auxquels on a injecté trois parties composantes du bacille tuberculeux: de la tuberculine, de la cire tuberculeuse et des bacilles tuberculeux dégraissés.

IIième groupe.

Le 2ième groupe renferme les animaux, auxquels on a injecté les produits d'hydrolyse de bacilles tuberculeux, et aussi les animaux qui recevaient, outre ces produits, encore de la lécithine en huile d'olive.

IIIième groupe.

Au 3ième groupe appartiennent les animaux qui ont reçu de la lécithine en huile d'olive.

IVième groupe.

Le 4ième groupe renferme les animaux qui ont reçu de la lécithine et du nucléate de sodium (provenant de levures).

Vième groupe.

Ce groupe renferme les animaux de contrôle. Ils se répartissent en deux sousgroupes: a^1 et b^1.

a^1) Les animaux de ce sousgroupe ont été tous infectés avec la tuberculose. Les ferments ont été déterminés avant et après l'infection.

b^1) A ce sousgroupe appartiennent les animaux normaux dont nous avons étudié les ferments.

VI groupe.

Le VI groupe renferme quatre chiens: un chien normal qui a servi d'animal de contrôle; deux chiens infectés avec la tuberculose: un dans le péritoine, l'autre dans le sang; le quatrième a reçu des produits de décomposition hydrolytique de bacilles tuberculeux et a été infecté ensuite avec des bacilles tuberculeux sous la peau.

Ier groupe.

Sousgroupe a.

De ce sousgroupe citons d'abord la brebis № 1 à laquelle on a injecté pendant 14 mois, à partir du 2 décembre 1909 de la cire tuberculeuse. En 12 injections l'animal a reçu 29 cm. c. d'émulsion de cire

tuberculeuse à 1%. Le 5/II 1911 l'animal a été infecté avec des bacilles tuberculeux sous la peau. Le 13/X de la même année on lui a introduit de nouveau des bacilles tuberculeux sous forme d'émulsion en quantité de 2 cm. c. non pas sous la peau, mais dans le sang.

L'animal a supporté bien les deux infections, presque sans réaction de température (la temp. ne s'est pas élevée au dessus de 39°,5). L'animal a réagi aux infections par une diminution du poids, comme le montre le tableau ci-dessous, mais l'animal s'est remis vite de cette diminution.

Tableau № 1. Poids de la brebis № 1.

Année et date.	Poids.	Année et date.	Poids.
Avant l'infection: 1911, 13/I: 39,000.			
Après la 1ière infection.		Après la 2ième infection.	
1911 5/III.	36,900	1911 25/X.	37,500
25/IV.	38,500	14/XI.	39,800
23/V.	38,200	1912 28/I.	40,000
15/VII.	40,600	11/IX.	38,200
29/VIII.	40,200	31/XII.	42,500

L'examen du sérum du sang, au point de vue de son pouvoir fermentatif, se faisait dans des intervalles déterminés. Le premier examen a été fait 3 mois $^1/_2$ après la 2ième infection, notamment le 28/I 1912. En tout le sérum a été examiné 5 fois au point de vue de son pouvoir fermentatif. On l'avait fait toutes les 5 fois après l'infection; les résultats de ces examens sont rapportés dans le tableau № 2.

En comparant les données de ces tableau à ceux obtenus pour une brebis normale[1]), on constate que, en dépit de l'infection répétée de l'animal avec la tuberculose, les chiffres pour la lipase ont été supérieurs par rapport aux chiffres normaux dans toutes les 5 déterminations, faites durant 1 année $^1/_2$. L'amylase a donné dans les deux premières déterminations des chiffres différant peu des chiffres normaux; dans les trois déterminations suivantes l'action amylolytique ne se manifestait plus.

L'antitrypsine a donné dans la première détermination un chiffre un peu au dessus de la norme et dans les quatre déterminations suivantes des chiffres inférieurs aux chiffres normaux.

1) V. sousgroupe b¹ du groupe V.

Tableau № 2. Ferments et antitrypsine.

Année et date.		Lipase.	Amylase.	Antitrypsine.
1912	28/I.	9,2	5	300
	23/IV.	16,4	7,8	66,6
	11/IX.	11,0	0	100,0
	31/XII.	10,8	0	50,0
1913	12/V.	9,0	0	120

Puis suit une jeune chèvre № 2 au poids de 19, kgr. 700 qui reçoit à partir du 1/IV 1911 sous la peau une solution de lécithine en huile d'olive à 10%. Jusqu'au 14/XI c. a. d. durant un intervalle de 6 mois on lui a introduit 31 cm. c.; le 13/X on lui a injecté des bacilles tuberculeux sous la peau.

A partir du 3/XII 1911 on lui introduit de temps en temps dans la cavité péritonéale une émulsion de cire tuberculeuse à 1 : 10000; jusqu'au 23/IV elle a reçu 8, cm. c. 5.

Le 31/V 1914 on fait à la chèvre une seconde injection de bacilles tuberculeux vivants (2 spatules pour 10 cm. c.) en quantité de 3 cm. c. sous la peau. Le sérum a été examiné (chaque fois deux essais ont été faits) 8 fois pendant l'intervalle de deux ans. Les résultats sont rapportés dans le tableau № 4 qui suit le tableau du poids.

En comparant les résultats obtenus aux chiffres caractéristiques du sérum d'un animal normal, nous voyons que les chiffres obtenus pour tous les ferments diffèrent peu de la norme. Pour la nucléase ont été obtenus des chiffres assez élevés, pour la lipase des chiffres moyens;

Tableau № 3. Poids de la chèvre № 2.

Année et date.		Poids.	Année et date.		Poids.
1911	25/IV.	19,700	1912	28/I.	28,000
	23/V.	20,500		23/IV.	33,600
	15/VII.	21,100		11/IX.	30,500
	29/VIII.	24,500		31/XII.	33,000
	13/X.	24,700	1913	9/IV.	31,000
	25/X.	21,125	1914	31/V.	35,600
	14/XI.	25,100		26/VI.	36,000
			1915	6/II.	34,600

Tableau № 4. Ferments et antitrypsine.

Année et date.	Nucléase.	Lipase.	Amylase.	Antitrypsine.
1912 28/I.		3,2	7,8	300
23/IV.		3,4	25,0	66,6
11/IX.		0,6	12,5	200
31/XII.		3,2	7,8	200
1914 26/V.	1,0	1,6	12,5	250
31/V.	Seconde infection avec des bac. tuber.			
26/VI.	0,79	2,0	12,5	500
29/XI.	0,94	1,4	12,5	100
1915 16/II.	0,80	6	8,0	

après la 2[ième] infection il n'a pas été constaté de chute de l'index lipolytique. L'antitrypsine a donné des chiffres moyens et après la 2[ième] infection une augmentation caractéristique de l'index antitryptique.

1ier groupe.

Sousgroupe b.

Au sousgroupe b du 1[ier] groupe appartiennent les animaux qui ont reçu un mélange de cire tuberculeuse et de bacilles dégraissés.

Parmi les animaux de ce sousgroupe citons d'abord la brebis № 3 au poids de 28, kgr. 750. A partir du 5/II 1911 jusqu'au 20/V on introduit à des intervalles de quelques jours le mélange indiqué sous la peau de l'animal; en tout il a été introduit 52 cm. c. Puis on continue les injections. Citons pour l'exemple la marche des injections suivantes: le 26/V 1911 il a été introduit 10 cm. c.; le 11/VI: 10 cm. c.; le 13/VII: 10; le 29/VIII: 10; le 9/IX: 12; le 20/IX: 12; le 3/X: 12; le 13/X 1911 il a été introduit à l'animal par voie intraveineuse 4 cm. c. d'une émulsion de bac. tuberc. vivants (2 spatules pour 10 cm. c. d'eau physiologique); le 29/X on lui a injecté de nouveau 12 cm. c. du mélange indiqué plus haut. On a injecté la même quantité de mélange le 14/XI; 30/XI, 12/XII. Le 28/I 1912 il a été injecté 13 cm. c., la même quantité le 13/III et le 5/IV; en tout l'animal a reçu du 5/II 1911 jusqu'au 5/IV 1912 163 cm. c. de mélange. Les données concernant la température sont peu caractéristiques, c'est pourquoi nous ne les citons pas. Les données concernant le poids sont rapportés dans le tableau № 5, ceux concernant les ferments et l'antitrypsine dans le tableau № 6.

Tableau № 5. Poids de la brebis.

Année et date.		Poids.
1911	14/III.	28,750
	15/VII.	29,500
	29/VIII.	32,700
	13/X.	31,750
	Infection.	
	25/X.	31,900
1912	28/I.	33,400
	23/IV.	31,000
	11/IX.	28,200
	31/XII.	35,000
1913	9/IV.	32,500
	20/V.	33,650

Tableau № 6. Ferments et antitrypsine.

Année et date.		Lipase.	Amylase.	Antitrypsine.
1912	28/I.	8,4	5,0	200
	23/IV.	6,6	5	200
	31/XII.	6,4	5	100
1913	9/V.	4,2	0	100
	20/V.	3,2	0	150

On voit que les chiffres pour la lipase sont un peu supérieurs à la norme; pour l'amylase il a été obtenu des chiffres bas dans 3 déterminations pour toute l'année 1912; dans les deux déterminations de l'année 1913 il n'a pas été constaté d'action amylolytiqne. L'antitrypsine est dans toutes les déterminations inférieure à la norme.

Dans le sousgroupe b du premier groupe il y a encore la brebis № 4 au poids de 36, kgr. 050 à laquelle on introduisait, ainsi qu'à la brebis précédente, à partir du 5/II 1911 sous la peau un mélange de cire tuberculeuse et de bacilles tuberc. dégraissés. Jusqu'au 20/V 1911 on a introduit à l'animal 68 cm. c. On continue ensuite les injections du mélange dans des quantités suivantes: 26/V: 12 cm. c.; 11/II: 12,5; 13/VII: 12; 29/VIII: 12; 9/IX: 14; 20/IX: 14; 3/X: 14. Le 13/X on a introduit dans le sang 2 cm. c. d'émulsion (2 spatules pour 10 cm. c. d'eau physiologique) de bacilles tuberc. vivants + 2 cm. c. de nucléate

de sodium à 2%. Le 29/X l'animal reçoit de nouveau 15 cm. c. de mélange indiqué plus haut; la même quantité le 14/X et le 30/XI. En tout il a été introduit pendant cette période 135, cm. c. 5 de mélange de cire tuberculeuses et de bac. tuberc. dégraissés, ce qui fait avec le 68 cm. c précédents 203 cm. c. $^1/_2$. Ensuite l'animal recevait dans le péritoine des injections de petites quantités d'une émulsion de cire tuberc. (1:10000): 3/XII: 1 cm. c.; 12/XII: 1,2; 28/I 1912: 1,4; 3/III: 1,5; 5/IV: 1,6; 23/IV: 1, cm. c. 8, en tout 8, cm. c. 5 d'émulsion de cire tuberc. Le tableau ci-dessous montre que, abstraction faite de petites déviations, l'animal augmentait normalement de poids. Il s'est vite remis après l'introduction de bacilles tuberculeux vivants.

Tableau № 7. Poids de la brebis.

Année et date.	Poids.	Année et date.	Poids.
1911 5/II.	36,050	1912 28/I.	40,150
25/IV.	35,200	23/IV.	39,300
23/V.	36,000	11/IX.	36,600
15/VII.	37,600	31/XII.	40,200
29/VIII.	37,700	1913 9/IV.	38,200
13/X.	37,300	10/VI.	37,800
Infection.			
25/X.	38,000		
14/XI.	38,600		

Le sérum a été examiné au point de vue de son pouvoir fermentatif 5 fois. Le premier examen a été fait 3 mois après l'infection. Les résultats sont rapportés dans le tableau ci-dessous.

Tableau № 8. Ferments et antitrypsine.

Année et date.	Lipase.	Amylase.	Antitrypsine.
1912 28/I.	2,6	0	300
23/IV.	3,4	0	133
11/IX.	2,4	0	100
31/XII.	2,6	0	50
1913 10/VI.	1,8	0	120

Nous voyons ainsi que l'index lipolytique est au dessous de la norme; il n'y a pas d'amylase, l'index antitryptique est peu considérable.

1ier groupe.

Sousgroupe c.

De ce sousgroupe citons d'abord la chèvre № 5 au poids de 51, kgr. 200 qui se trouvait sous notre observation du 20/X 1909 jusqu'au 17/VI 1913 c. a. d. 3 ans 8 mois. Au début l'animal a servi pour les expériences d'immunisation contre la tuberculose; à cet effet on lui introduisait des bacilles tuberculeux tués avec de la tuberculine a 0,01 p. 100; du 5/II jusqu'au 20/V il a été introduit 15, cm. c. 5; puis on a introduit 6 fois des bacilles tuberculeux vivants chauffés à 60 et 50^0 et enfin 4 fois des bacilles tuberculeux vivants virulents. A partir du 26/V 1911 la chèvre recevait de nouveau de petites doses de tuberculine:

26/V 1911: 2, cm. 5; 11/VI: 3; 13/VII: 3; 29/VIII: 3; 9/IX: 3,5; 20/IX: 4; 3/X: 4; 29/X: 5; 14/XI: 5; 30/XI: 5; 12/XII: 5; 28/I 1912: 5,5; 13/III: 5,5; 5/IV: 5,5 et 23/IV: 5,5. En tout il a été injecté durant cette période à la chèvre 69 cm. c. de tuberculine à 0,01 p. 100. Pour montrer comment l'animal a supporté les injections, nous citons ci-dessous le tableau du poids.

Tableau № 9. Poids de la chèvre.

Année et date.	Poids.	Année et date.	Poids.
1911 13/I.	51,200	1912 28/I.	51,500
23/V.	50,100	23/IV.	49,940
15/VII.	48.600	11/IX.	50,200
29/VIII.	52,000	31/XII.	52,000
13/X.	52,000	1913 9/IV.	49,200
25/X.	53,100	20/V.	48,000
14/XI.	52,500		

Le sérum a été examiné ou point de vue de son pouvoir fermentatif 5 fois. Les deux premier examens ont été faits pendant la période d'injection de tuberculine, les trois suivants après la cessation des injections.

Tableau № 10. Ferments et antitrypsine.

Année et date.	Lipase.	Amylase.	Antitrypsine.
1912 28/I.	4,6	31,2	300
23/IV.	2,4	20,0	200
11/IX.	8,1	12,5	200
31/XII.	2,8	13,5	200
1913 17/VI.	1,4	12,5	100

Le tableau montre que durant la période où l'animal recevait des injections de tuberculine l'index lipolytique différait peu de l'index normal. Le pouvoir amylolytique a fortement augmenté; l'index antitryptique présente aussi une certaine augmentation.

Les recherches faites 5 mois après ont montré que l'index lipolytique a augmenté (8,1) après la cessation des injections de tuberculine et est descendu ensuite jusqu'à la norme. Le pouvoir amylolytique s'est abaissé jusqu'à la norme et l'index antitryptique au dessous de la norme.

Au même sousgroupe appartient une autre jeune chèvre № 6 au poids de 25, kgr. 300 à laquelle on injectait sous la peau à partir du 4/IV 1911 un mélange des parties égales de tuberculine à 1% et de lécithine à 2%; ont été injectés: 4/IV: 0, cm. c. 5 de mélange; 15/IV: 1,0; 25/IV: 2,0; 26/V: 2; 11/VI: 2,5; 13/VII: 2,5; 29/VIII: 2,5; 9/IX: 2,5; 20/IX: 3; 3/X: 3; 29/X: 4; 14/XI: 4. En tout il a été injecté ainsi 29, cm. c. 5 de mélange de tuberculine et de lécithine. Le 13/X 1911 on a introduit à l'animal sous la peau 1 cm. c. d'une émulsion (2 spatules pour 10 cm. c. d'eau physiologique) de bac. tuberc. vivants. Du 3/XII jusqu'au 23/IV 1912 l'animal recevait dans le péritoine des injections de cire tuberculeuse. Il a été fait 6 injections; il a été injecté 8, cm. c. 5 d'une émulsion de cire tuberculeuse à 1%. Nous citons ci-dessous le tableau du poids.

Tableau № 11. Poids de la chèvre.

Année et date.		Poids.
1911	25/IV.	25,300
	23/V.	28,100
	15/VII.	27,500
	29/VIII.	29,600
	13/X.	29,750
Infection.		
	25/X.	30,400
	14/XI.	29,600
1912	28/I.	31,600
	23/IV.	37,000
	11/IX.	34,500
	31/XII.	37,200
1913	9/IV.	36,700

Le sérum a été examiné au point de vue de son pouvoir fermentatif 4 fois: 2 fois dans la période où on a injecté de la cire tuberculeuse, 2 fois pendant le temps où on ne faisait d'injections d'aucune sorte.

Tableau № 12. Ferments et antitrypsine.

Année et date.	Lipase.	Amylase.	Antitrypsine.
1912 28/I.	3	12,2	300
23/IV.	4	20,0	66,6
11/IX.	7,6	20,0	100,0
31/XII.	4,6	13,5	200

L'index lipolytique, comme le montrent les données du tableau, était prés de la norme pendant la période d'injection de cire, ensuite il était un peu supérieur à la norme; il en est de même en ce qui concerne l'amylase. L'index antitryptique qui est assez élevé dans la première détermination, manifeste des oscillations dans les déterminations suivantes.

1ier groupe.

Sousgroupe d.

Ce sousgroupe renferme les animaux auxquels on a injecté un mélange de trois parties composantes: de cire tuberculeuse, de tuberculine et de bacilles tuberculeux dégraissés.

Bouc № 7 au poids de 35, kgr. 100. Du 5/II 1911 jusqu'au 20/V on lui a injecté 63 cm. c. de mélange, il recevait avant le 5/II des injections d'une émulsion de cire tuberc. à 1%. Il a été fait 16 injections et il a été introduit en tout 4 cm. c. d'émulsion.

Le 9/V 1911 il a été introduit à l'animal sous la peau 2 cm. c. d'une émulsion de bac. tuberc. vivants (2 spatules pour 10 cm. c.); à certains intervalles on injecte à l'animal le mélange; il a été introduit de cette manière: 23/V: 8 cm. c.; 28/V: 10; 11/VI: 10; 13/VII: 11; 29/VIII: 11; 9/IX: 12; 20/IX: 12; 3/X: 12; 13/X: 12; 29/X: 13; 14/XI: 13; 30/XI: 13; 12/XII: 13; 28/I 1912: 13 13/III: 13; 5/IV: 10; 30/IV: 10; en tout 198+63=261 cm. c.

Le tableau du poids montre que l'introduction de bac. tub. vivants a entraîné un diminution assez sensible du poids, mais ensuite l'animal se remet et commence à augmenter de poids.

Tableau № 13. Poids du bouc.

Année et date.	Poids.	Année et date.	Poids.
1911 13/I.	35,100		
Infection.			
23/V.	26,600	1912 28/I.	57,550
15/VII.	26,850	23/IV.	65,400
29/VIII.	59,500	11/IX.	73,200
13/X.	59,000	31/XII.	70,200
25/X.	56,600	1913 9/IV.	76,500
14/XI.	53,100	28/V.	76,000

Le sérum a été examiné 5 fois au point de vue de son pouvoir fermentatif. Les résultats sont rapportés dans le tableau ci-dessous.

Tableau № 14. Ferments et antitrypsine.

Année et date.	Lipase.	Amylase.	Antitrypsine.
1912 28/I.	5	20	200
23/IV.	6,4	12,5	133
11/IX.	4,5	12,5	200
31/XII.	4	5	200
1913 9/V.	3,6	12,5	250

Le pouvoir lipolytique est un peu supérieur à la norme. Le pouvoir amylolytique manifeste une augmentation dans la première détermination; les chiffres obtenus ensuite correspondent à la norme; il n'y a qu'une exception (31/XII 1912 = 5). L'index antitryptique correspond à la norme.

Au même sousgroupe appartient le mouton noir № 8 qui recevait, en même temps que le bouc précédent et à partir de la même date, (5/II 1911) le même mélange. Jusqu'au 20/VII il a reçu 72 cm. c. de ce mélange. Le 2/V 1911 on a introduit dans le sang du mouton 2 cm. c. d'une émulsion de bac. tuberc. vivants (2 spatules pour 10 cm. c.). On a continué ensuite les injections; il a été injecté: 26/V: 12 cm. c.; 11/VI: 12,5; 13/VII: 12; 29/VIII: 13; 9/IX: 13; 20/IX: 14; 3/X: 14; 13/X: 13; 29/X: 14; 14/XI: 14; 30/XI: 14; 12/XII: 14; 28/I 1912: 15; 13/III: 15; 5/IV: 10; 23/IV: 10. En tout il a été introduit sous la peau pendant cette période 210, cm. c. 5 de mélange de trois principes.

Citons le tableau du poids pour l'orientation.

Tableau № 15. Poids du mouton.

Année et date.		Poids.
1911	13/III.	47,200
	25/IV.	51,750
2. V.	Infection.	
	23/V.	50,500
	15/VII.	49,500
	29/VIII.	55,000
	13/X.	53,500
	25/X.	52,500
	14/XI.	55,500
1912	28/I.	56,000
	23/IV.	56,000
	11/IX.	58,500
	31/XII.	63,500

L'examen du pouvoir fermentatif du sérum du sang a été fait 5 fois. Les résultats sont rapportés dans le tableau ci-dessous.

Tableau № 16. Ferments et antitrypsine.

Année et date.		Lipase.	Amylase.	Antitrypsine.
1912	28/I.	1,8	12,5	100
	23/IV.	4,6	12,5	200
	11/IX.	5	12,5	100
1913	31/XII.	5,6	20,0	200
	6/VI.	3,2	12,5	200

Le pouvoir fermentatif en comparaison à la norme s'est abaissé pour la lipase, il est supérieur à la norme en ce qui concerne l'amylase; l'index antitryptique est dans les limites de la norme. Le résultat obtenu pour le mouton correspond ainsi au résultat obtenu pour le bouc auquel on injectait le même mélange.

IIième groupe.

Ce groupe renferme 5 animaux: 2 moutons, 2 chèvres et 1 bouc.

Au jeune mouton № 9 au poids de 7 kgr. 950 on a commencé à injecter des produits de décomposition hydrolytique de bacilles tuber-

culeux. La préparation № 4 a été introduite à des petits intervalles dans des quantités suivantes: 13/X 1911: 1, cm. c. 5; 17/X: 1,75; 23/X: 2; 1/XI: 2,25; 15/XI: 3. Pendant un mois environ il a été introduit approximativement 11 cm. c.; le 10/XII on a introduit 1 cm. c. de la préparation № 3, et puis on a fait une interruption jusqu'au 12/III 1912.

Les injections renouvelées du produit hydrolytique № 3 ont été faites à des intervalles suivants: 12/III 1913: 1 cm. c.; 23/III: 1,5; 30/III: 1,5; 10/IV: 2 cm. c. de la préparation № 1; 20/IV: 3; 4/V: 3; en tout il a été injecté encore 12 cm. c., ce qui fait avec les précédents 23 cm. c. $^1/_2$. Le 31/V 1914 le mouton a été infecté par voie intraveineuse avec 3 cm. c. d'une émulsion de bac. tub. vivants (2 spatules pour 10 cm. c.).

Tableau № 17. Poids du mouton.

Année et date.	Poids.
1912 13/X.	7,950
12/XII.	11,950
1913 2/III.	15,500
9/IV.	17,200
1914 31/V.	32,000
Infection.	
16/VI.	28,000
6/X.	27,000

Le pouvoir fermentatif du sérum a été déterminé 3 fois avant l'infection et 3 fois après l'infection.

Tableau № 18. Ferments et antitrypsine.

Aunée et date.	Nucléase.	Lipase.	Amylase.	Antitrypsine.
1912 31 XII.	—	9	13,5	100
1913 2/III.	—	7,4	12	100
1914 26/V.	0,93	8,2	5	250
31/V.	Infection.			
16/VI.	0,61	3	5	500
29/XI.	0,80	3	8	100
31/XII.	0,71	3,4	8	333

L'introduction de bac. tub. vivants a provoqué ainsi des troubles dans les fonctions fermentatives. Ce phénomène s'est manifesté de la manière la plus caractéristique dans l'action de la lipase dans le sens de l'abaissement de l'index lipolytique (3 au lieu de 8,2) qui ne montait pas dans les examens suivants au dessus de 3,4. La nucléase a donné aussi un abaissement dans le premier examen après l'infection; dans les déterminations suivantes l'index nucléolytique manifestait une lente croissance. L'amylase n'a pas montré de changements dans la première détermination après l'infection, dans les deux déterminations suivantes il a été constaté une augmentation de l'index amylolytique. L'index antitryptique s'est élevé d'une manière très prononcée après l'introduction de l'infection tuberculeuse.

A la jeune brebis № 10 au poids de 8, kgr. 250 on a commencé l'injection de produits de décomposition hydrolytique de bacilles tuberculeux № 4 à partir du 13/X 1912; cette préparation a été introduite dans des quantités suivantes: 13/X: 1, cm. c. 5; 17/X: 1,75; 23/X: 2; 1/XI: 2,25; 15/XI: 3; 13/XII: 1,0 (№ 3). En tout il a été introduit ainsi 11, cm. c. 5; ensuite on a fait une interruption, et puis on a repris les injections de la préparation № 3; il a été injecté: 12/III 1913: 1 cm. c.; 22/III: 1,5; 30/III: 1,5; 10/IV: 2 cm. c.; prép. № 1, 20/IV: 3; 4/V: 3. Il a été injecté au cours de la 2ième période 12 cm. c.; en tout il a été introduit 23, cm. c. 5. Le 31/V la brebis a été infectée dans le péritoine avec 3 cm. c. d'une émulsion de bacilles tuberculeux.

Tableau № 19. Poids de la brebis.

Année et date.		Poids.
1912	19/X.	8,250
	1/XII.	11,950
1913	2/III.	14,250
	9/IV.	17,200
1914	31/V.	23,600
	Infection.	
	16/VI.	22,000
	6/X.	24,000

Les ferments du sérum ont été examinés 6 fois: 3 fois avant l'infection, au cours de la période de l'injection de produits de décomposition hydrolytique de bacilles tuberculeux et 3 fois après l'infection, lorsqu'on on n'a rien injecté. Les résultats de ces déterminations sont rapportés dans le tableau ci-dessous.

Tableau № 20. Ferments et antitrypsine.

Année et date.	Nucléase.	Lipase.	Amylase.	Antitrypsine.
1912 31/XII.		8,2	20	100
1913 2/III.		6,8	—	50
1914 26/V.	0,98	5,8	7,65	250
	Après l'infection.			
16/VI.	0,62	3,4	12,5	100
29/IX.	0,87	3,6	12,5	100
1915 19/I.	0,90	5,2	31,2	100

On voit que les index nucléolytique et lipolytique se sont abaissés après l'infection. La nucléase a manifesté une augmentation déjà à la deuxième détermination et aussi dans la détermination suivante. L'index amylolytique s'est maintenu aux chiffres moyens après l'infection, ensuite il a donné un chiffre relativement très haut (31,2). L'index antitryptique n'a pas manifesté d'augmentation, comme d'habitude, mais s'est abaissé (100 au lieu de 250).

Bouc № 11 au poids de 21, kgr. 600. A partir du 9/XII 1913 on a commencé l'injection de produits de décomposition hydrolytique de bac. tub. (préparation № 4); il a été injecté: 9/XII: 1 cm. c.; 17/XII: 2; 3/I 1914: 3; 11/I: 4; 22/I: 5. En tout il a été injecté pendant cette période 15 cm. c. Ensuite le bouc a été infecté le 30/I 1914 sous la peau avec 2 cm. c. d'une émulsion de bacilles tuberculeux. Les injections de produits hydrolytiques ont été renouvelées; il a été injecté: 11/II: 5 cm. c.; 24/II: 5; 4/III: 5. A partir du 29/III on a commencé à introduire le produit de décomposition concentré jusqu'à la moitié dans le vide; il a été introduit 3 cm. c. (= 6 cm. c. de produit primitif); puis le 23/IV: 4 cm. c. Ensuite il a été introduit 2 cm. c. de produit concentré jusqu'à la cinquième de son volume et enfin le 9/V 1 cm. c. de produit concentré jusqu'à la dixième de son volume primitif. Il a été injecté ainsi en tout 49 cm. c., si l'on calcule tout pour le produit non concentré. Le pouvoir fermentatif a été déterminé 9 fois. La première détermination a été faite avant l'injection du produit hydrolytique; les deux déterminations suivantes on été faites avant l'infection avec des bacilles tuberculeux; 2 déterminations ont été faites après l'infection au cours de la période, où l'on a injecté la préparation hydrolytique, et 4 déterminations après la cessation des injections. Nous citons ci-dessous les tableaux du poids et des résultats des déterminations du pouvoir fermentatif.

Tableau № 21. Poids du bouc.

Année et date.	Poids.
1913 9/VII.	21,600
1914 3/I.	22,300
30/I.	24,200
Infection.	
29/III.	25,700
16/VI.	30,700
6/X.	31,500

Tableau № 22. Ferments et antitrypsine.

Année et date.	Nucléase.	Lipase.	Amylase.	Antitrypsine.
Avant l'injection et l'infection.				
1913 9/XII.	0,41	2,8	12,5	250
1914 4/I.	—	4,4	8,0	250
30/I.	—	2,6	7,8	250
Après l'infection.				
4/III.	0,63	3,0	12,5	500
18/IV.	0,71	4,2	20	500
26/V.	0,84	4,0	7,65	166
16/VI.	0,67	2,4	7,8	100
29/IX.	0,87	1,0	8,0	100
1915 2/III.	0,86	4,4	5,0	50

Suivant les données de ce tableau, l'index nucléolytique est ainsi élevé. L'index lipolytique ne s'est pas abaissé après l'infection; l'avant-dernière détermination exceptée où il est très bas, il manifeste plutôt une tendance à monter. L'index amylolytique ne s'est pas abaissé en comparaison à la norme; dans la deuxième détermination il présente même une augmentation. L'index antitryptique a augmenté après l'infection, dans les déterminations suivantes il manifeste un abaissement rapide.

Citons encore les animaux qui ont reçu préalablement de la lécithine en huile d'olive et du nucléate de sodium.

Le mouton № 12 au poids de 37, kgr. 500 recevait à partir du 13/X 1912 sous la peau le produit hydrolytique de bacilles tuberc. (préparat. № 4) dans les quantités suivantes: 13/X: 2 cm. c.; 17/X: 2,5; 23/X: 3;

1/XI: 3,25; 15/XI: 4; 10/XII: 2 cm. c. de la préparation № 3; en tout il a été injecté ainsi 16, cm. c. 3; ensuite on a fait une interruption jusqu'au 12/III 1913, lorsque les injections de la prép. № 3 ont été reprises: 12/III: 2 cm. c.; 22/III: 2; 30/III: 2; 10/IV: 3 cm. c. de la préparation № 1; 20/IV: 5 cm. c.; 4/V: 5; après l'interruption il a été injecté ainsi 19 cm. c., ce qui fait avec les injections précédentes 35, cm. c. 3 de produit hydrolytique.

Tableau № 23. Poids du mouton.

Année et date.	Poids.
1912 23/IV.	37,500
1/IX.	38,500
3/XII.	41,000
1913 4/III.	38,500
9/IV.	37,500
16/VI.	43,500

Le pouvoir fermentatif du sérum a été déterminé 6 fois. Les résultats sont rapportés dans le tableau ci-dessous (tabl. 24).

Tous les ferments, de même que l'antitrypsine présentent des chiffres normaux. Ce n'est que la nucléase qui présente une exception avec son chiffre bas.

Tableau № 24. Ferments et antitrypsine.

Année et date.	Nucléase.	Lipase.	Amylase.	Antitrypsine.
1912 23/IV.	—	7,8	12,5	200
11/IX.	—	6,6	12,5	100
31/XII.	—	7,8	13,5	200
1913 4/III.	—	10,8	—	200
9/XII.	0,36	6,8	8	166
1914 26/V.	—	5,8	7,6	250

La brebis № 13 au poids de 28, kgr. 500 recevait, ainsi que le mouton précédent, préalablement de la lécithine en huile et du nucléate de sodium. A partir du 13/X 1912 on a commencé à lui injecter sous la peau des produits de décomposition hydrolytique de bacilles tuberculeux dans des quantités suivantes: 13/X 1912: 2 cm. c. (prép. № 4);

17/X: 2,5; 25/X: 3; 1/XI: 3,25; 15/XI: 4; 10/XII: 2 cm. c. de la prép. № 3. Les injections de la préparation № 3 ont été reprises: 12/III: 2 cm. c.; 29/III: 2; 30/III: 2; 10/IV: 3 cm. c. de la prépar. № 1; 20/IV: 5; 4/V: 6. Il a été injecté ainsi pendant la 1ère période 16, cm. c. 75, pendant la deuxième période 20 cm. c., en tout 36, cm. c. 75 de produit hydrolytique de bacilles tuberculeux.

Tableau № 25. Poids de la brebis.

Année et date.	Poids.
1912 11/IX.	28,500
30/XII.	33,500
1913 2/III.	31,500
2/IV.	33,600

Le sérum a été examiné 3 fois au point de vue de son pouvoir fermentatif.

Tableau № 26. Ferments et antitrypsine.

Année et date.	Lipase.	Amylase.	Antitrypsine.
1912 11/IX.	9,6	20	100
31 XII.	7,2	7,8	200
1913 2/III.	9,8	8	200

Les chiffres obtenus et rapportés dans le tableau pour les ferments de même que pour l'antitrypsine corresspondent à la norme.

IIIième groupe.

Le IIIième groupe renferme les animaux auxquels on a injecté de la lécithine. Il y a en tout dans ce groupe 4 animaux: 2 brebis, 1 mouton et 1 chèvre.

A la brebis № 14 au poids de 25, kgr. 750 on a fait sous la peau des injections de lécithine à 10% en huile d'olive. Du 13/VII 1911 jusqu'au 12/XII, c. a. d. pendant un intervalle de 5 mois il a été fait à l'animal 30 injections; il a été injecté: 13/VII: 1, cm. c. 5; 15/VII: 2,5; 18/VII: 2; 21/VII: 2; 24/VII: 2; 27/VII: 2; 30/VII: 2; 2/VIII: 2,5; 5/VIII: 2,5; 8/VIII: 2,5; 12/VIII: 2,5; 15/VIII: 2,5; 18/VIII: 2,5; 21/VIII: 2,75; 24/VIII: 2,75; 27/VIII: 2,75; 30/VIII: 2,75; 3/IX: 3; 7/IX: 3; 9/IX: 3;

15/IX: 3; 20/IX: 3; 3/X: 3,5; 29/X: 4; 14/XI: 4; 30/XI: 4; 12/XII: 4,5. En tout il a été injecté, par conséquent, 76 cm. c. de lécithine en huile d'olive à 10 %. Citons ci-après le tableau du poids de la brebis.

Tableau № 27. Poids de la brebis.

Année et date.	Poids.
1911 3/VII.	25,750
15/VII.	27,200
16/VIII.	27,100
29/VIII.	29,000
25/X.	32,500
14/XI.	32,650
1912 28/I.	30,500

Le sérum a été examiné 1 fois au point de vue de son pouvoir fermentatif.

Tableau № 28. Ferments et antitrypsine.

Année et date.	Lipase.	Amylase.	Antitrypsine.
1912 28/I.	7,6	7,8	300

Le coefficient lipolytique est ainsi un peu au dessus de la norme. Les chiffres, obtenus pour l'amylase et la lipase, se trouvent dans les limites de la norme.

Puis vient la brebis noire № 15 au poids de 27, kgr. 800, à laquelle on faisait jusqu'au 5/II 1911 des injections d'une émulsion acqueuse de lécithine à 2% (préparée au laboratoire). A partir de ce temps la lécithine sous forme d'une solution à 10% en huile d'olive a été introduite; jusqu'au 20/V il a été introduit 73 cm. c. Le 2/V 1911 la brebis a été infecté avec des bacilles tuberculeux sous la peau. L'injection de lécithine continue avec les intervalles suivants: 26/V: 12 cm. c.; 11/VI: 12,5; 13/VII: 12,5; 29/VIII: 13; 9/IX: 13; 20/IX: 14; 3/X: 14; 15/X: 14; 29/X: 10; 14/XI: 10; 30/XI: 10; 12/XII: 11; 28/I 1912: 11; 13/III: 11; 5/IV: 12; 23/IV: 10; en tout il a été introduit au cours de cette période 190 cm. c. de lécithine à 10% en huile d'olive. Aux endroits des injections il a été observé chez la brebis noire la formation des tumeurs qui se résorbaient lentement, rarement quelques unes s'ouvraient à l'extérieur.

Tableau № 29. Poids de la brebis.

Année et date.	Poids.
1911 13/I.	27,800
25/IV.	25,850
Infection.	
23/V.	26,900
15/VII.	29,000
29/VIII.	27,000
13/X.	30,500
25/X.	28,500
14/XI.	29,000
1912 28/I.	32,950
23/V.	27,100
11/IX.	27,200
31/XII.	32,500

Le sérum a été examiné au point de vue de son pouvoir fermentatif 5 fois (toutes les fois après l'infection).

Tableau № 30. Ferments et antitrypsine.

Année et date.	Lipase.	Amylase.	Antitrypsine.
1912 13/III.	3	7,8	200
23/IV.	3,4	20,0	200
11/IX.	2,4	12,6	100
31/XII.	3,8	7,8	200
1913 27/V.	1,6	7,8	250

Les données de ce tableau montrent que l'injection de lécithine en huile d'olive durant un temps assez long n'a pas fait monter, dans les conditions de l'expérience, l'énergie lipolytique. Dans toutes les cinq déterminations faites au cours d'un intervalle au dessus d'une année, l'index lipolytique a été au dessous de la norme. Le pouvoir amylolytique manifestait des oscillations: dans 3 déterminations le rèsultat à été au dessous de la norme; dans une dans les limites de la norme (12,6) et dans la dernière au dessus de la norme (20,0). L'index antitryptique a été près de la norme.

Ce groupe renferme encore le mouton № 16, auquel on introduisait, de même qu'aux deux brebis précédentes, de la lécithine en huile. Le poids primitif du mouton a été de 27 kgr. Les injections de lécithine ont commencé le 13/VII 1911 et ont été faites dans des quantités suivantes: 13/VII: 1 cm. c.; 15/VII: 2; 18/VII: 1,5; 21/VII: 1,5; 24/VII: 1,5; 30/VII: 1,5; 2/VIII: 2,0; 5/VIII: 2,0; 8/VIII: 2,0; 12/VIII: 2,0; 15/VIII: 2,0; 18/VIII: 2,0; 21/VIII: 2,25; 24/VIII: 2,25; 27/VIII: 2,25; 30/VIII: 2,25; 3/IX: 2,5; 7/IX: 2,5; 9/IX: 2,5; 15/IX: 3; 20/IX: 3; 3/X: 3,5; 29/X: 4,0; 14/XI: 4; 30/XI: 4; 12/XII: 4,5. Il a été fait ainsi 30 injections et introduit 64 cm. c. 1 de lécithine en huile. Citons le tableau du poids du mouton.

Tableau № 31. Poids du mouton.

Année et date.	Poids.
1911 13/VII.	27,000
15/VII.	28,100
16/VIII.	29,200
29/VIII.	30,500
25/X.	30,400
14/XI.	32,850
1912 28/I.	33,000

Le sérum a été examiné une fois au point de vue de son pouvoir fermentatif; le résultat suivant a été obtenu.

Tableau № 32. Ferments et antitrypsine.

Année et date.	Lipase.	Amylase.	Antitrypsine.
1912 28/I.	6	7,8	300

Il suit du tableau que le pouvoir fermentatif correspond à la norme.

Au même groupe appartient la jeune chèvre № 17 au poids de 19, kgr. 700, à laquelle on introduisait aussi sous la peau à partir du 1/IV 1911 de la lècithine à 10 $^0/_0$ en huile. Les quantités suivantes de lécithine ont été injectées: 4/IV: 0, cm. c. 5; 15/IV: 1; 25/IV: 2; 11/VI: 2,5; 13/VII: 2,5; 29/VIII: 2,5; 1/IX: 3; 20/IX: 3; 3/X: 3; 29/X: 4; 14/XI: 4. Il a été fait 12 injections et injecté en tout 31 cm. c. de lécithine en huile. Le 13/X 1911 la chèvre a été infectée sous la peau avec des bacilles tuberculeux vivants.

Tableau № 33. Poids de la chèvre.

Année et date.	Poids.
1911 25/IV.	19,700
23/V.	20,500
15/VII.	21,100
25/VIII.	24,500
13/X.	24,700
Infection.	
25/X.	21,125
14/XI.	25,100
28/I.	28,000

On voit ainsi que l'infection avec des bacilles tuberculeux a entraîné une diminution du poids; l'animal s'est pourtant vite remis.

Le sérum a été examiné au point de vue de son pouvoir fermentatif une fois, 3 mois après l'infection.

Tableau № 34. Ferments et antitrypsine.

Année et date.	Lipase.	Amylase.	Antitrypsine.
1912 28/I.	3,2	7,8	300

On voit ainsi que le chiffre obtenu pour la lipase le trouve près de la norme, en la dépassant de peu. Le chiffre pour l'amylase est au dessous de la norme, l'index antitryptique un peu supérieur à la norme.

IVième groupe.

Le IVième groupe renferme les animaux, qui recevaient de la lécithine en émulsion acqueuse avec Na Nucleinic., et aussi les animaux qui recevaient de la lécithine en huile et puis du nucléate de sodium. Il y a dans ce groupe trois animaux: 2 moutons et une chèvre.

Au mouton № 18 au poids de 30, kgr. 500 on a commencé à partir du 18/III 1911 des injections d'un mélange de lécithine et de nucléate de sodium (2 parties de nucléate de sodium à 3 % et 1 partie de lécithine acqueuse à 2 %); jusqu'au 20/V il a été indroduit au mouton sous la peau 24 cm. c. de ce mélange. Puis des quantités suivantes ont été injectées: 26/V: 5 cm. c.; 11/VI: 6; 13/VII: 7; 29/VIII: 7,5; 9/IX: 8;

20/IX: 8; 3/X: 10; 13/X 1911 l'animal a été infecté avec des bacilles tuberculeux (4 cm. c.; émulsion: 2:10) sous la peau. Les injections du mélange de lécithine et de nucléate de sodium ont été reprises le 29/X, il a été injecté: 29/X: 10 cm. c.; 14/IX: 10; 30/XI: 10; 12/XII: 10; 28/I 1912: 11 cm. c.; 13/III: 11; 5/IV: 10; 23/IV: 10. Il a été introduit durant cette période 133, cm. c. 5, ce qui fait avec les 24 cm. c. précédents 157 cm. c. 5.

Tableau № 35. Poids du mouton.

Année et date.	Poids.
1911 13/I.	30,500
25/IV.	38,500
23/V.	39,500
15/VII.	41,600
29/VIII.	44,800
13/X.	43,500
Infection.	
25/X.	44,000
14/XI.	44,100
1912 28/I.	45,200
23/IV.	47,100
11/IX.	48,600
31/XII.	53,000
1913 9/IV.	48,200
14/VI.	50,000

Le sérum a été examiné, au point de vue de son pouvoir fermentatif, après l'infection, pour la première fois, le 28/I 1912; il a été fait en tout 5 déterminations.

Tableau № 36. Ferments et antitrypsine.

Année et date.	Lipase	Amylase.	Antitrypsine.
1912 28/I.	3,4	5	200
23/IV.	4,4	5	0
11/IX.	4,2	0	0
31/XII.	4,2	0	200
1913 14/VI.	3,1	5	120

L'index lipolytique est, ainsi que l'on voit, inférieur à la norme dans toutes les déterminations faites durant un intervalle plus d'une année. Pour le pouvoir amylolytique il a été obtenu dans trois déterminations des résultats voisins de la norme, dans deux déterminations il n'y avait pas de ferment; le même fait a été constaté aussi dans deux déterminations pour l'antitrypsine.

Au mouton № 19 au poids de 33 kgr. on injectait préalablement durant 5 mois de la lécithine en huile à 10%. L'animal a reçu ainsi 64 cm. c. de lécithine en huile; puis on lui a fait 4 injections de nucléate de sodium à 2% (10 cm. c. chaque fois), en tout 40 cm. c.

Tableau № 37. Poids du mouton.

Année et date.	Poids.
1912 28/I.	33,000
23/IV.	37,500
11/IX.	38,500

Le sérum a été examiné deux fois au point de vue de son pouvoir fermentatif.

Tableau № 38. Ferments et antitrypsine.

Année et date.	Lipase.	Amylase.	Antitrypsine.
1912 23/IV.	7,8	12,5	200
11/IX.	6,6	12,5	100

Il suit du tableau que les chiffres qui expriment le pouvoir fermentatif correspondent à la norme.

Ce groupe renferme encore une brebis qui recevait préalablement de la lécithine en huile. De même qu'aux animaux précédents, on injectait à la brebis après la lécithine en huile du nucléate de sodium à 2%. Durant 4 mois on lui a fait 4 injections (10 cm. c. chaque fois); on a introduit ainsi à la brebis sous la peau 40 cm. c. de nucléate de sodium à 2%.

Tableau № 39. Poids de la brebis.

Année et date.	Poids.
1912 28/I.	30,500
23/IV.	36,500

Tableau № 40. Ferments et antitrypsine.

Année et date.	Lipase.	Amylase.	Antitrypsine.
1912 23/IV.	8,4	12,5	200
11/IX.	9,6	20	100

Les chiffres cités dans le tableau présentent des index élevés pour la lipase et l'amylase et un index moyen pour l'antitrypsine.

VIème groupe.

Sousgroupe a[1] du Vième groupe.

Ce sousgroupe renferme des animaux dont le sérum a été examiné à l'état normal, c. a. d. avant l'infection avec des bacilles tuberculeux, et ensuite après l'infection (2 à 3 semaines et 2 mois après l'infection). Ce sousgroupe renferme 2 boucs et 1 mouton.

Bouc № 21 au poids de 23, kgr. 200. L'examen du sérum, au point de vue de son pouvoir fermentatif, avant l'infection a donné le résultat suivant.

Tableau № 41. Ferments et antitrypsine avant l'infection.

Année et date.	Nucléase.	Lipase.	Amylase.	Antitrypsine.
1913 9/XII.	0,45	2,6	12,5	333

Le bouc a été infecté dans le sang avec 2 cm. c. d'une émulsion de bacilles tuberculeux (4 spatules pour 10 cm. c.). Trois semaines et quatre jours après le sérum a été examiné de nouveau au point de vue de son pouvoir fermentatif.

Tableau № 42. Ferments et antitrypsine après l'infection.

Année et date.	Nucléase.	Lipase.	Amylase.	Antitrypsine.
1914 4/I.	—	3,6	12	500

Le poids de l'animal s'est abaissé le 4/I de 23, kgr. 200 jusqu'à 18, kgr. 400. L'animal a succombé à la tuberculose (v. autopsie).

Jeune mouton № 22 au poids de 7950 gr. Le sérum a été examiné 3 fois avant l'infection.

Tableau № 43. Ferments et antitrypsine avant l'infection.

Année et date.	Nucléase.	Lipase.	Amylase.	Antitrypsine.
1912 31/XII.	—	9	13,5	100
1913 2/III.	—	7,4	—	100
26/V.	0,93	8,2	5	250

Le 31/V il a été injecté au mouton dans le sang 3 cm. c. d'une émulsion de bacilles tuberculeux (2 spatules pour 10 cm. c.) Deux semaines après, le sérum a été examiné au point de vue de son pouvoir fermentatif.

Tableau № 44. Ferments et antitrypsine après l'infection.

Année et date.	Nucléase.	Lipase.	Amylase.	Antitrypsine.
1914 16/VI.	0,61	3	5	500

Le poids du mouton s'est abaissé après l'infection de 4 kgr.

A ce groupe appartient encore le bouc № 23 au poids de 21, kgr. 600. L'examen du sérum avant l'infection au point de vue de son pouvoir fermentatif a donné les résultats suivants:

Tableau № 45. Ferments avant l'infection.

Année et date.	Nucléase.	Lipase.	Amylase.	Antitrypsine.
1913 9/VII.	0,41	2,8	12,5	250

Le 30/I 1914 le bouc a été infecté sous la peau avec 2 cm. c. d'une émulsion de bacilles tuberculeux vivants (4 spatules pour 10 cm. c. d'eau physiologique). Le 4/III le sérum a été examiné au point de vue de son pouvoir fermentatif.

Tableau № 46. Ferments et antitrypsine après l'infection.

Année et date.	Nucléase.	Lipase.	Amylase.	Antitrypsine.
1914 4/III.	0,63	3	12,5	500

VIème groupe.

Sousgroupe b[1].

Ce sousgroupe renferme les animaux (2 boucs, une chèvre, une brebis et un mouton), dont les ferments ont été examiné à l'état normal.

Au bouc № 24 (au poids de 21 kgr., 700) complètement sain, qui se trouvait sous notre observation plus d'une année, on a prelevé du sang le 9/XII 1913; pour obtenir du sérum, on a laissé reposer le sang. Les données concernant le pouvoir fermentatif sont rapportées dans le tableau suivant.

Tableau № 47. Ferments et antitrypsine.

Année et date.	Nucléase.	Lipase.	Amylase.	Antitrypsine.
1913 9/XII.	0,41	2,8	12,50	250

L'examen du sérum du bouc № 25 plus jeune, au poids de 23, kgr. 200 a donné les résultats suivants.

Tableau № 48. Ferments et antitrypsine.

Année et date.	Nucléase.	Lipase.	Amylase.	Antitrypsine.
1913 9/XII.	0,45	2,6	12,5	333

L'examen du sérum de la chèvre № 26 au poids de 35, kgr. 600 a donné les résultats suivants.

Tableau № 49. Ferments et antitrypsine.

Année et date.	Nucléase.	Lipase.	Amylase.	Antitrypsine.
1914 26/V.	0,84—1,03	1,6—2,6	12,5	250

L'examen du sérum du mouton № 27 au poids de 32 kgr. a donné les résultats suivants.

Tableau № 50. Ferments et antitrypsine.

Année et date.	Nucléase.	Lipase.	Amylase.	Antitrypsine.
1914 26/V.	0,93	8,2	5,0	250

L'examen du sérum de la jeune brebis № 28 (au poids de 23, kgr. 600), qui a été sous notre observation environ deux ans, a donné les résultats suivants :

Tableau № 51. Ferments et antitrypsine.

Année et date.	Nucléase.	Lipase.	Amylase.	Antitrypsine.
1914 26/V.	0,98	5,8	7,65	250

Tableau № 52. Ferments et antitrypsine des animaux normaux.

Espèce animale.	Année et date.	Poids.	Nucléase.	Lipase.	Amylase.	Antitrypsine.
1. Bouc	1913 9/XII.	30,700	0,41	2,8	12,5	250
2. Bouc	1913 9/XII.	23,200	0,45	2,6	12,5	330
3. Chèvre . . .	1914 26/V.	35,600	1,03	2,6	12,5	250
4. Brebis	1914 26/V.	23,600	0.98	5,8	7,65	250
5. Mouton . . .	1914 26/V.	32,0C0	0,93	8,2	5,0	250
6. Chèvre . . .	1914 26/V.	35,600	0,84	1,6	12,5	250
7. Chien	1915 12/I.	—	0,83	7,6	100	125
8. Chien jaune .	1914 26/V.	18,600	0,66	6,6	156	250
9. Chien noir . .	1914 26/V.	30,500	0,81	7,4	156	156
10. Vieux chien .	1913 9/XII.	13,600	0,55	7,4	—	333
11. Jeune mouton .	1912 31/XII.	7,950	—	9,0	13,5	100
12. Bouc	1913 9/VII.	23,600	0,41	2,8	12,5	250

Quelques uns des animaux soumis aux expériences ont été saignés à blanc après un certain temps; après l'examen macroscopique et microscopique, au point de vue de la tuberculose, des animaux tués ainsi, leurs organes furent soumis avec toutes les précautions d'asépsie à la dessica-

tion dans un appareil à ventillateur électrique; on déterminait ensuite le pouvoir fermentatif de ces organes. Tous les résultats obtenus concernant le pouvoir fermentatif des organes sont groupés dans des tableaux. Pour chaque enzyme et ferment il y a un tableau dans lequel se trouvent les chiffres pour tous les organes de chaque animal.

En tout ont été examinés, au point de vue du pouvoir fermentatif, les organes de 12 animaux à cornes (2 boucs, 2 chèvres, 5 brebis et 3 moutons) et, en outre, de deux chiens.

Chiens.

VIième groupe.

A ce groupe appartiennent 4 chiens. Un de ces chiens est un chien normal; les données concernant les ferments de son sérum se trouvent dans le tableau № 52.

Deux chiens ont été infectés avec des bacilles tuberculeux vivants. Un de ces chiens, un chien noir au poids de 30, kgr. 500 a reçu le 31/V 1914, après la détermination du pouvoir fermentatif de son sang, des bacilles tuberculeux vivants sous forme d'une émulsion (2 spatules pour 10 cm. c. d'eau physiologique) injectée en quantité de 3 cm. c. dans la veine. Certains intervalles de temps après, l'animal était pesé et on déterminait le pouvoir fermentatif de son sérum.

L'autre chien (chien jaune), au poids de 18, kgr. 600, a été infecté, après la détermination du pouvoir fermentatif de son sérum, dans le péritoine avec la même quantité de bacilles tuberculeux. On le pesait aussi en même temps que l'autre et on déterminait le pouvoir fermentatif du sérum de son sang.

Tableau № 53.

Année et date.	Poids des chiens.	
	Chien noir.	Chien jaune.
1914 26/V.	30500	18600
31/V.	Infection.	
5/X.	23500	17000
1915 12/I.	18200	14800

On voit que le poids des chiens s'est abaissé considérablement après l'infection; mais exterieurement les animaux ne manifestaient pas de symptômes de maladie. Le pouvoir fermentatif du sérum a été déterminé trois fois: pour la première fois 2 semaines après l'infection, pour la deuxième fois 4 mois et pour la troisième fois 7 móis après l'infection.

Ensuite les deux chiens furent saignés à blanc par la carotide et tués. A l'autopsie il a été constaté que tous leurs organes ont été normaux; les organes désséchés ont été examinés au point de vue de leur pouvoir fermentatif.

Tableau № 54. Ferments du sérum et antitrypsine.

Chien noir.					Chien jaune.					
Année et date.	Nucléase.	Lipase.	Amylase.	Antitrypsine.	Année et date.	Nucléase.	Lipase.	Amylase.	Antitrypsine.	
1914 26/V.	0,81	7,4	15,6	156	1914 26/V.	0,66	6,6	156	250	A l'état normal.
31/V.	Infection par voie intraveineuse.				31/V.	Infection dans le péritoine.				
16/VI.	0,55	7	312,5	166	16/VI.	0,59	6,8	200	100	2 sem. après l'infection.
5/X.	—	8,4	125	250	5/X.	—	6,8	125	50C	4 mois apr. l'inf.
1915 12/I.	0,86	8,8	100	100	1915 12/I.	0,91	28,0	100	125	7 mois apr. l'inf.

Il suit du tableau que l'infection n'a pas influencé d'une manière particulière le pouvoir fermentatif; il faut seulement signaler un abaissement de la nucléase chez les deux chiens dans la première détermination après l'infection et une augmentation dans la dernière détermination (7 mois après l'infection).

Le pouvoir lipolytique n'a presque pas changé 2 semaines après l'infection et a augmenté fortement chez un des chiens à la détermination 7 mois après l'infection.

L'amylase a augmenté bientôt après l'infection; ensuite elle a commencé à descendre et est descendue chez un des chiens au dessous de la norme.

L'antitrypsine a augmenté un peu seulement une fois chez un chien.

En examinant le tableau des ferments des organes, nous trouvons une grande ressemblance entre les nombres se rapportant aux deux chiens en ce qui concerne la moyenne. En examinant le tableau d'après les organes, nous trouvons certaines différences: chez le chien noir, infecté par voie intraveineuse, l'énergie lipolytique maxima s'est concentrée dans le corps thyroïde, tandis que chez le chien jaune, infecté dans le péritoine, le foie présente le plus grand index lipolytique.

Le plus grand index nucléolytique se trouve chez un des chiens dans les reins et chez l'autre dans le pancréas.

Le plus grand index amylolytique se trouve dans les deux cas dans le pancréas; dans le même organe se trouve le plus bas index antitryptique.

Tableau № 55. Ferments des organes et antitrypsine.

	Chien noir.				Chien jaune.			
	Nucléase.	Lipase.	Amylase.	Antitrypsine.	Nucléase.	Lipase.	Amylase.	Antitrypsine.
Poumons	0,78	123	250	500	—	130	166	500
Foie	—	242	166	625	0,85	210	250	500
Rate	—	75	250	625	0,66	22	625	250
Pancréas	0,66	96	833	166	1,09	52	625	125
Reins	0,94	175	500	250	0,73	99	500	500
Glandes surrénales	0,70	70	250	500	0,72	50	250	250
Corps thyroïde . .	0,81	275	250	500	0,91	156	250	250
Total . .	3,89	1056	2499	3166	4,96	719	2666	2375
Moyenne . .	0,78	151	357	452	0,84	102,7	380,8	339,3

Au même 6ième groupe appartient encore un chien, au poids de 13, kgr. 600, auquel on a commencé à introduire sous la peau, après l'examen de son sérum à l'état normal, à partir du 9/XII 1913, des produits de décomposition hydrolytique de bacilles tuberculeux dans des doses augmentant progressivement. Il a été introduit de cette manière: 9/XII 1913: 1 cm. c. de la préparation № 4; 17/XII: 2 cm. c.; 3/I 1914: 3; 11/I: 4; 22/I: 5 cm. c. En tout il a été fait 5 injections et il a été introduit 15 cm. c. de TBC hydrolysé.

Le 30/I 1914 le chien a été infecté sous la peau avec 2 cm. c. d'une émulsion de bacilles tuberculeux vivants (2 spatules pour 10 cm. c. d'eau physiologique). Les injections du produit d'hydrolyse continuaient. Il a été introduit: 11/II 1914: 5 cm. c.; 24/II: 5 cm. c.; 14/III: 5 cm. c.; 29/III: 3 cm. c. de produit d'hydrolyse concentré à la moitié de son volume (= 6 cm. c. de produit primitif); 23/IV: 4 cm. c. de produit d'hydrolyse concentré à la moitié (= 8 cm. c. de produit primitif); 30/IV: 2 cm. c. de produit concentré à la cinquième de son volume (= 10 cm. c. de produit primitif); 9/V: 1 cm. c. de produit concentré à la dixième de son volume (= 10 cm. c. de produit primitif). En tout il a été injecté 66 cm. c. de la préparation № 4. Le 31/V le chien a été infecté pour la deuxième fois avec 3 cm. c. d'une émulsion de bacilles tuberculeux vivants (2 spatules pour 10 cm. c. d'eau physiologique); cette fois les bacilles tuberculeux ont été introduits dans le sang. Le chien a commencé a diminuer de poids, il a succombé le 15/VII. A l'autopsie il a été constaté une inflammation des poumons; il a été trouvé sur les préparations microscopiques des poumons des diplocoques et une petite

quantité de bacilles tuberculeux. Les organes de ce chien, mort d'une infection accidentelle, n'ont pas été examiné au point de vue de leur pouvoir fermentatif. Le sérum a été examiné au cours de l'introduction du produit d'hydrolyse 4 fois: une fois avant l'infection et trois fois après l'infection.

Tableau № 56.

Année et date.	Poids.
1913 9/XII.	13600
1914 3/I.	12300
30/I.	12500
30/I. Infection.	
29/III.	13350
31/V.	14100
31/V. Infection.	
10/VI.	13700

On voit qu'au début des injections du produit d'hydrolyse de TBC le poids du chien a diminué un peu, puis il a commencé à augmenter; la première infection avec des bacilles tuberculeux vivants n'a pas retenti sur le poids, il a continué à augmenter; la deuxième infection a entraîné une légère diminution du poids.

Tableau № 57. Ferments du sérum et antitrypsine.

Année et date.	Nucléase.	Lipase.	Amylase.	Antitrypsine.	Moment de la détermination.
1913 9/XII.	0,55	7,4	—	333	A l'état normal.
1914 30/I.	—	8,6	156	250	Au cours des injections du produit d'hydrolyse.
30/I.	Infection sous la peau.				
4/III.	0,63	6,8	250	1700	2 mois après l'infection.
18/IV.	0,76	8,6	200	250	3 mois „ „
31/V.	0,43	7,8	122	166	4 mois „ „

En comparant ce tableau au tableau des chiens qui ont été infectés avec des bacilles tuberculeux vivants et auxquels on n'a rien injecté, nous voyons que l'infection avec des bacilles tuberculeux vivants n'a pas influencé d'une manière particulière les ferments, il faut seulement signaler que chez le dernier chien il a été constaté une augmentation de l'antitrypsine.

Procés-verbaux des autopsies des animaux.

№ 1. Brebis. Tué par saignée à blanc. Tous les organes internes sont normaux. Sous la peau des nodules de grandeur d'oeuf de poule.

№ 2. Chèvre aveugle. Tuée par saignée à blanc. Tous les organes internes normaux à l'autopsie. Sous la peau deux nodules peu considérables avec du pus; sous le microscope sur les préparations du pus on voit la désagrégation des cellules, des restes du bacille tuberculeux et 2 à 3 bâtonnets; l'ensemencement du pus sur la pomme de terre a donné un résultat négatif.

№ 3. Brebis. Tuée par saignée à blanc. Organes normaux. Sous la peau du dos (aux endroits de l'injection) des grands nodules avec une capsule compacte de tissu conjonctif et du pus dense de couleur verdâtre clair à l'intérieur. Sous le microscope sur les préparations du pus (coloration d'après Ziehl-Nielsen) parmi les filaments bleus et les cellules il y a des masses de forme irrégulière colorées en rose (cire tuberculeuse?), des restes de bâtonnets tuberculeux, des bâtonnets entiers et des groupes de bâtonnets. Le pus a été injecté dans la péritoine d'un cobaye. Une année après le cobaye a été tué par saignée à blanc; à l'autopsie tous les organes étaient normaux.

№ 4. Tuée par saignée à blanc. Tous les organes sont normaux, ce n'est que dans le foie qu'il y a un nodule de tissu conjonctif avec du pus dense. Sous la peau 4 nodules avec du pus. Sur les préparations du pus des bâtonnets tuberculeux.

№ 5. Organes normaux.

№ 7. Organes normaux; il n'y a pas de nodules sous la peau.

№ 8. Mouton. Tué par saignée à blanc. Organes normaux. Sous la peau beaucoup de nodules avec du pus, sous le microscope dans le pus des bâtonnets et des restes de bâtonnets tuberculeux.

№ 9. Mouton. Tué par saignée à blanc. Organes normaux.

№ 10. Jeune brebis. A l'autopsie les poumons et le coeur sont normaux. A la surface du foie plusieurs tubercules durs et jaunes, de grandeur d'un grain de millet. L'épiploon est tout couvert de petits tubercules jaunes semblables. A la surface de la rate se trouvent aussi de petits tubercules jaunes, sa capsule est très épaisse, au bord inférieur de la rate il y a un nodule de tissu conjonctif de grandeur d'une fève avec du pus dense verdâtre. A l'ensemencement de la pomme de terre avec du pus il a été obtenu un résultat négatif. Sous le microscope il a été trouvé sur les frottis du foie des bâtonnets tuberculeux, dans le pus de la rate la désaggrégation des cellules, mais pas de bâtonnets tuberculeux.

№ 11. Bouc. Tous les organes sont normaux.

№ 15. Tous les organes sont normaux; sous la peau aux endroits de l'injection des nodules jusqu'à la grandeur d'une amande avec une capsule compacte et du pus dense, dans quelques uns de l'huile liquide qui ne s'est pas résorbé.

№ 18. Mouton. Tous les organes internes sont normaux. Sous la peau au cou une tumeur dure avec des parois épaisses de tissu conjonctif, à l'intérieur du pus et beaucoup de cheveux. Le contenu du nodule est dissout dans de l'antiformine, sous le microscope il n'a pas été trouvé de bâtonnets tuberculeux.

№ 21. L'autopsie de l'animal de contrôle (bouc) qui a succombé le 9/I 1914, un mois après l'infection de la veine de l'oreille avec des bacilles tuberculeux (bovins) vivants a montré que les poumons et le foie sont atteints du processus tuberculeux.

Les poumons présentent un tissu compact de couleur rouge foncé. Le foie est fortement hypéremié, il est de couleur bleu-rouge foncé et est devenu compact. Les autres organes sont normaux. A l'endroit de l'injection, à l'oreille un nodule compact fusiforme. A l'examen microscopique il a été trouvé sur les frottis des poumons et du foie beaucoup de bâtonnets tuberculeux, dans les autres organes il n'a pas été trouvé de bacilles tuberculeux.

Les données obtenues à l'étude du pouvoir fermentatif de différents organes présentent un grand intérêt, car elle nous permettent de nous répresenter sous tel ou tel rapport non seulement le travail des organes isolés, mais à certain degré aussi le travail de tout l'organisme. Il suit de ces données que pour certains ferments, entres autres, aussi pour la lipase, le maximum de l'énergie fermentative est atteint toujour par un organe déterminé. Le tableau (№ 59) concernant la lipase nous montre que le foie donne les chiffres les plus éléves pour tous les cas étudiés. La deuxième place, au point de vue du pouvoir lipolytique, n'est pas toujours occupée par un organe déterminé, mais tantôt par un, tantôt par un autre organe. Dans certains cas cette place appartient au corps thyroïde, dans d'autres aux poumons. Les autres organes présentent des oscillations considérables.

En ce qui concerne l'amylase (tableau № 55), il a été établi que le pancréas renferme presque toujours ce ferment; sur 12 cas étudiés ce n'est que dans 2 cas que ce ferment n'était pas présent. Il faut signaler que l'on obtient pour le pancréas assez souvent des chiffres très élevés: p. e. № 9 chez un jeune mouton = 8333 unités et № 10 chez une brebis = 5000 un. Puis, l'amylase a été obtenue dans 9 cas sur 11 dans l'intestin, mais pas dans de telles quantités considérables que dans le pancréas. Il faut noter aussi que les animaux du groupe II

Tableau № 58. Nucléase.

Organes.	Groupe I.							Groupe II.			Groupe III.	Groupe IV.	Moyenne.
	Sousgroupe a.		Sousgroupe b.		Sous-groupe c.	Sousgroupe d.							
	Brebis № 1.	Chèvre № 2.	Brebis № 3.	Brebis № 4.	Chèvre № 5.	Bouc № 7.	Mouton № 8.	Mouton № 9.	Brebis № 10.	Bouc № 11.	Brebis № 15.	Mouton № 18.	
Cerveau	0,51	0,58	0,54	0,14	0,53	0	0,68	0,68	0,93	0,64	0,60	0,11	0,50
Muscles	0,25	0,58	0,13	0,34	0,11	0,24	—	0,60	1,50	0,62	0,10	0,06	0,50
Coeur	0.54	0,93	0,27	0,38	0,62	0,14	—	0,77	1,50	0,70	0,52	0,05	0,58
Poumons	0,50	0,88	0,40	0,69	0,54	0,87	—	0,87	1,02	1,06	0,70	0,97	0,77
Foie	0,61	0,70	0,43	0,65	0,79	0,50	—	1,25	0.86	—	0,70	0,41	0,69
Pancréas	1,31	1,15	0,59	1,25	—	—	—	0,81	0,85	1,02	1,02	0,71	0,97
Rate	0,46	1,16	0,89	0,91	—	—	—	1,14	1,02	1,24	0,91	0,70	0,94
Intestin	—	1,13	0,86	0,72	0,58	1,16	0	1,05	0,99	1,13	0,81	0,63	0,82
Reins	1,03	0,87	0,73	0,73	0,76	1,21	0,88	0,94	1,0	1,10	0,69	0,60	0,88
Glandes surrénales	0,61	0,61	0,48	0,26	0,64	—	0,63	0,87	—	1,02	0,72	0,44	0,63
Corps thyroide . .	1,14	0,93	0,81	0,65	0,76	—	1,24	0,68	—	1,30	—	0,67	0,91
Moelle osseuse . .	0,21	—	0,03	0,18	0,05	—	0	—	—	—	1,02	0	0,21
Mamelle	—	—	—	—	0,21	—	—	—	—	—	—	—	0,21
Testicules	—	—	—	—	—	0,72	0,96	0,82	—	0,86	—	0,73	0,81
Total	6,96	9,52	6,16	6.90	5,59	4,84	4,39	10,48	9,67	10,69	7,53	6,08	
Moyenne	0,63	0,87	0,51	0,58	0,51	0,61	0,63	0,87	1,07	0,97	0,69	0,47	

Tableau № 59. Lipase.

Organes.	Groupe I.							Groupe II.			Groupe III.	Groupe IV.	Moyenne.
	Sousgroupe a.		Sousgroupe b.		Sous-groupe c.	Sousgroupe d.							
	Brebis № 1.	Chèvre № 2.	Brebis № 3.	Brebis № 4.	Chèvre № 5.	Bouc № 7.	Mouton № 8.	Mouton № 9.	Brebis № 10.	Bouc № 11.	Brebis № 15.	Mouton № 18.	
Cerveau	33	25	6	17	82	30	44	39	40	34	34	27	34
Muscles	42	52	69	37	30	10	72	61	71	74	35	27	48
Coeur	39	42	65	41	23	0	56	80	29	64	47	25	42,6
Poumons	97	117	121	87	73	137	144	168	126	210	26	94	117
Foie	164	256	228	161	177	271	263	262	224	458	237	226	244
Pancréas	176	94	78	38	95	142	128	131	98	179	1	58	101,5
Rate	86	91	63	97	94	110	153	164	131	220	118	78	117
Intestin	—	96	56	17	16	81	87	111	41	153	83	90	75
Reins	114	89	10	24	42	103	102	124	114	208	107	95	94
Glandes surrénales	98	76	29	5	59	67	88	148	98	87	88	78	76
Corps thyroïde . .	158	155	99	40	149	168	139	87	156	201	111	118	132
Moelle osseuse . .	0	—	3	5	0	—	0	—	—	57	0	0	8
Mamelle	—	—	—	—	16	—	—	—	—	—	—	—	16
Testicules	—	—	—	—	—	61	76	76	—	—	—	79	73
Total	1007	1093	827	569	856	1180	1352	1451	1128	1945	887	1035	
Moyenne	91,5	99,3	69	47,4	65,7	98,3	104	121	102,5	162	74	72	

Tableau № 60. Amylase.

Organes.	Groupe I.							Groupe II.			Groupe III.	Groupe IV.	Moyenne.
	Sousgroupe a.		Sousgroupe b.		Sous-groupe c.	Sousgroupe d.							
	Brebis № 1.	Chèvre № 2.	Brebis № 3.	Brebis № 4.	Chèvre № 5.	Bouc № 7.	Mouton № 8.	Mouton № 9.	Brebis № 10.	Bouc № 11.	Brebis № 15.	Mouton № 18.	
Cerveau	0	20	33	0	0	0	0	0	100	0	0	0	13
Muscles	0	0	0	0	0	0	0	0	33	0	0	0	2,75
Coeur	33	20	0	0	0	0	50	83,3	25	0	33	0	20,4
Poumons	0	0	100	20	0	0	50	83,3	50	0	50	0	29,4
Foie	0	0	0	20	0	50	100	0	33	0	33	0	19
Pancréas	20	312,5	0	200	2000	0	1250	8333	5000	2500	100	100	1651
Rate	50	0	50	50	0	—	500	125	250	0	33	0	96
Intestin	—	0	100	33	33	33	200	125	100	0	125	100	77
Reins	125	0	100	50	0	50	400	200	100	20	0	50	99,5
Glandes surrénales	0	0	0	50	0	0	33	200	—	0	0	0	25,7
Corps thyroïde . .	0	0	0	0	0	200	0	125	33	0	0	0	29,8
Moelle osseuse . .	0	—	0	0	0	—	0	—	—	0	0	0	0
Mamelle	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Testicules	—	—	—	—	—	20	50	125	—	—	—	33	56
Total	228	352,5	383	423	2033	353	2633	9399,6	5724	2520	374	283	
Moyenne	20,7	32	32	35	169	32	203	783,3	572,4	210	31	22	

Tableau № 61. Antitrypsine.

Organes.	Groupe I.							Groupe II.			Groupe III.	Groupe IV.	Moyenne.
	Sousgroupe a.		Sousgroupe b.		Sous-groupe c.	Sousgroupe d.							
	Brebis № 1.	Chèvre № 2.	Brebis № 3.	Brebis № 4.	Chèvre № 5.	Bouc № 7.	Mouton № 8.	Mouton № 9.	Brebis № 10.	Bouc № 11.	Brebis № 15.	Mouton № 18.	
Cerveau	1666	125	300	625	2000	50	500	2500	500	0	400	2500	913,8
Muscles	625	125	100	400	200	200	1000	.500	0	0	50	200	283,3
Coeur	200	125	50	233	500	200	1000	1666	50	50	150	312	378
Poumons	2500	250	50	303	500	400	2000	5000	0	125	1250	400	1064,8
Foie	0	0	200	625	5000	200	2000	0	500	83,3	303	0	742,6
Pancréas	0	0	0	0	1000	0	2000	0	50	83,3	200	0	277,8
Rate	2500	0	200	1250	1000	1250	2000	833	500	500	100	0	844,4
Intestin	—	1000	0	150	625	2300	2000	1250	250	250	303	5000	1193,4
Reins	2500	62,5	400	400	1250	833	500	500	500	500	0	5000	1037
Glandes surrénales	5000	500	100	200	416	1250	500	250	—	—	—	—	1027
Corps thyroïde . .	200	250	100	200	312	400	—	833	500	—	200	1250	424,5
Moelle osseuse . .	0	—	—	0	0	—	0	—	—	—	0	0	0
Mamelle	—	—	—	—	100	—	—	—	—	—	—	—	100
Testicules	—	—	—	—	—	400	500	628	—	500	—	0	405,6
Total	15191	2437,5	1500	4386	12903	7483	14000	13960	2850	2091,6	2956	14662	
Moyenne	1381	221,6	136	365,5	992,5	623,6	1166,7	1155	285	209,16	268,7	1223,5	

donnent les chiffres moyens les plus élevés (v. tabl. № 60). Nous nous bornons à constater ce fait, sans en tirer des conclusions, car des observations plus nombreuses sont encore nécessaires sous ce rapport. Les chiffres moyens les plus bas correspondent au groupe IV. Pour la nucléase, de même que pour l'antitrypsine (tableau № 58 et № 61) dans les conditions données le maximum du travail fermentatif ne correspond pas à un organe déterminé. Dans 7 cas sur 11 l'antitrypsine n'a pas été trouvée. Il suit du tableau № 56 que pour l'antitrypsine les chiffres moyens les plus élevés sont fournis par les animaux du sousgroupe a (groupe I) et du groupe IV. Dans le groupe II il a été trouvé un index antitryptique élevé chez le № 9, chez les deux autres animaux du groupe II il a été trouvé des chiffres moyens considérablement moins élevés.

En examinant le tableau № 58 pour la nucléase, nous constatons que le chiffre moyen le plus bas pour le groupe IV a été trouvé chez le mouton № 18, qui recevait un mélange de lécithine et de nucléinate de sodium. Des chiffres moyens peu élevés ont été obtenus aussi dans les sousgroupes b et c du groupe I qui renferment des animaux qui ont reçu des parties composantes du bâtonnet tuberculeux et ont été ensuite infectés avec des bacilles tuberculeux vivants. Des chiffres moyens un peu plus élevés pour la nucléase ont été obtenus pour les animaux du sousgroupe d du groupe I, qui ont reçu un mélange de trois substances et ont été ensuite infectées avec des bacilles tuberculeux vivants; des chiffres encore plus élevés enfin ont été obtenus pour les sousgroupe a du groupe I. Les chiffres moyens les plus élevés pour la nucléase ont été obtenus dans le groupe II, qui renferme des animaux qui on reçu des produits d'hydrolyse de bacilles tuberculeux et ont été infectés ensuite avec des bacilles tuberculeux vivants (V. autopsies).

Toute une série d'observations ayant montré que les ferments en général, et quelques uns en particulier, sont très sensibles au changements de l'organisme entraînés par des maladies et par d'autres déviations par rapport à la norme, nous nous sommes proposé de poursuivre l'état du pouvoir fermentatif à l'introduction dans l'organisme de différentes substances, notamment: des parties composantes du bâtonnet tuberculeux, des produits d'hydrolyse de ce bâtonnet et enfin des bacilles tuberculeux vivants. Les données obtenues ont pleinement confirmé nos suppositions. Les expériences ont montré que l'organisme animal réagit d'une manière bien déterminée à l'introduction de telles ou telles substances.

L'organisme répond à l'introduction des bacilles tuberculeux vivants ou tués par l'augmentation du pouvoir antitryptique dans le sérum et

les organes; suivant l'état de l'organisme ce pouvoir revient rapidement ou lentement à la norme.

En ce qui concerne l'amylase et la nucléase nous ne faisons pas encore de conclusions définitives; ces deux ferments présentant des oscillations dans leur action, des observations plus nombreuses y sont encore nécessaires.

Tout ce qui a été dit ne se rapporte pas aux chiens, car ceux-ci se comportent, à ce qu'il paraît, d'une autre manière vis à vis de l'infection tuberculeuse. Nous n'avons fait des expériences que sur 3 animaux, c'est pourquoi nous n'examinons pas ce groupe d'une manière detaillée.

Ainsi que l'ont montré des nombreuses recherches précédentes et que l'ont confirmé nos observations, le ferment lipolytique est très sensible à l'infection tuberculeuse, c'est pourquoi il peut servir pour caractériser l'état du malade ou dans nos recherches de l'animal d'expérience.

C'est un fait connu qu'un index lipolytique élevé indique que l'organisme est capable de résister à la tuberculose.

En examinant le tableau № 59, nous constatons que dans le sousgroupe *d* du groupe I il y a des chiffres relativement élevés chez le mouton № 8, qui recevait un mélange de 3 substances et a été infecté par voie intraveineuse avec des bacilles tuberculeux vivants, et chez le bouc № 7 qui recevait le même mélange et qui a été infecté sous la peau. Dans le sousgroupe *a* du groupe I il y aussi des chiffres plus élevés chez la chèvre № 2, qui recevait d'abord de la lécithine à 10 % en huile d'olive, puis de la cire tuberculeuse et qui a été infectée avec des bacilles tuberculeux vivants sous la peau et chez la brebis № 1, qui recevait de la cire tuberculeuse et qui a été infectée deux fois avec des bacilles tuberculeux vivants sous la peau et puis dans le sang. Nous observons l'index lipolytique le plus élevé, en ce qui concerne les chiffres totaux, ainsi que les chiffres moyens, dans le groupe II qui renferme les animaux qui recevaient des produits d'hydrolyse du bâtonnet tuberculeux et qui on été infectés ensuite avec des bacilles tuberculeux vivants. Chez les autres animaux il a été trouvé des chiffres moyens plus bas pour les organes. Le tableau indiqué nous montre tout ce qui a été dit.

L'introduction de l'infection tuberculeuse aux animaux à cornes provoque une diminution plus ou moins sensible du poids de l'animal. L'introduction des parties composantes du bâtonnet tuberculeux avant l'infection et au cours de la periode de l'infection change la réaction de l'organisme vis à vis de l'infection.



Travaux de la Commission pour l'étude de la peste dans le Sud-Est de la Russie.

Rapport de la mission du village de Zavetnoïé.

Par **M-lle O. Aristarkhowa** et **M. S. Souvoroff.**

I.

Les conditions économiques et sanitaires au village de Zavetnoïé et dans les hameaux d'alentour.

Le village de Zavetnoïé est situé sur la rivière d'Amta, affluent de la rivière Sal qui débouche dans le Don. C'est un des grands villages de l'arrondissement de Tcherny-Jar; il se trouve non loin de la frontière de la province du Don dans le Sud-Est du gouvernement d'Astrakhan.

La station la plus proche du chemin de fer est située à une distance de 86 verstes; jusqu'au Volga il y a plus de 200 verstes.

En 1913 il y avait dans le village de Zavetnoïé 809 maisons avec plus de 6000 habitants dont 5100 petits-russiens et 855 grands-russiens.

Zavetnoïé occupe plusieurs verstes (kilometres) sur les deux bords de la petite rivière sinueuse Amta; comme toutes les rivières de la steppe, Amta est pleine d'eau au printemps et presque sèche au cours de l'été. La plaine, à travers laquelle coule Amta, est coupée de ravins qui se remplissent au printemps d'eau qui coule dans l'Amta.

Grâce à cette abondance d'eaux de printemps et à la situation basse par rapport à la steppe environnante, Zavetnoïé est plein de jardins et présente une vraie oasis verte dans la steppe grise uniforme.

Les habitants sont en première ligne des agriculteurs, ensuite aussi éleveurs d'animaux. Parmi les occupations secondaires des habitants il faut mentionner l'horticulture et la culture de légumes. Avec le village Kitchkino, Zavetnoïé possède 82,400 dessiatines de terre; plus de 60,000 dessiatines dont la moitié convient à l'agriculture, appartiennent au village de Zavetnoïé.

La plus grande partie de la terre présente la propriété de la commune. Il n'y a que peu d'habitants qui se sont séparés de la commune; de telle manière une dizaine de hameaux avec une cinquantaine de maisons se sont formés. Le plus grand hameau (Sokirkine), qui renferme 16 maisons, se trouve à une distance de 5 verstes du village; les autres avec un nombre de maisons de 1 à 13 sont dispersés à une distance de 20 à 30 verstes au nord et nord-est du village. En outre, il y a encore des hameaux temporaires où les paysans s'établissent au printemps avec leurs familles et leurs animaux domestiques pour tout le temps de travaux de champs. On construit des „cuisines", de petites maisonnettes en briques de „saman"[1]) avec des toits de terre, sans plancher, avec 1 à 2 fenêtres. On fait pour le bétail des enclos entourés souvent de murs de fumier en forme de briques qui sert pendant l'hiver comme combustible. On creuse aussi des puits.

Les autres paysans restés membres de la communuauté, qui s'occupent d'agriculture et dont les lots de terrain se trouvent loin du village, se rendent aux travaux de champs avec de petites baraques (de dimensions de $2^1/_2$ à 3 $\times$ $3^1/_2$ à 4 archines) sans fenêtres qui peuvent être transportées sur des voitures et servent d'abri pendant le mauvais temps et les froids de printemps et d'automne. Pendant l'été ils couchent le plus souvent à plate terre. Ne se rendent aux champs que les membres travailleurs de familles et les enfants plus âgés qui font la chasse aux spermophiles. Pendant les interruptions des travaux les ouvriers se rendent au village et prennent parfois avec eux les baraques.

Le type des maisons au village même change, suivant l'origine des habitants: dans la partie petit-russienne il n'y a presque pas de maisons de bois; ici il y a principalement de maisons en briques de „saman" (briques contenant de la paille hachée) enduites d'argile, blanchies, avec deux à trois fenêtres et des toits de paille ou de roseaux (plus rarement de terre).

Dans la partie grand-russienne on trouve des maisons de bois composées d'un rez-de-chaussée et d'une étage, couvertes de fer on de tuiles. Dans la cour il y a, outre les autres services, des cuisines de saman avec une toit de terre qui servent surtout comme demeures pendant l'hiver, tandis que la grande maison propre reste vide.

Les dimensions moyennes des maisons sont de 8$\times$10 archines (70%).

Toute la maison, si même elle a un rez-de-chaussée et une étage, est composée d'une chambre séparée par une cloison de bois et une poêle russe en 2 à 3 parties. La porte d'entrée s'ouvre habituellement dans une vestibule avec un perron.

---

1) Saman = paille hachee.

Dans la pluspart des maisons il n'y a pas de planchers, rarement il y a des planchers d'ais.

Dans beaucoup de maisons il n'y a pas de plafonds: ils sont remplacés par des toits à pente douce composées de paille et d'une couche de terre couverte de l'extérieur d'argile. Cette abondance de terre dans les maisons contribue beaucoup à la malpropreté et surtout à la multiplication des parasites parmi lesquels prédominent les puces; il y a relativement peu de punaises.

Il faut signaler aussi l'absence de bains dans la plupart des maisons (il n'y a que 20 bains environ et pas un seul bain public).

Zavetnoïé présente un centre commercial pour les villages à une distance de 30 à 40 verstes; toutes les semaines il y a des marchés qui attirent les paysans des environs. Il y a, en outre, trois foires où se rendent des marchands et des acheteurs des endroits situés a 200 verstes et plus en nombre de 3 à 10 mille personnes. Les kalmoukes amènent des chevaux, du bétail et des chameaux; du Don on apporte du poisson, de la poterie, du blé et des produits d'agriculture, du Volga d'autres produits.

Une certaine quantité d'habitants du village se rendent pendant l'été dans le gouvernement de Stavropol et la province de Don où ils font des travaux de champs.

En ce qui concerne l'assistance médicale, il existe une organisation permanente dans le village de Zavetnoïé dépuis l'épidémie de peste bubonique de l'année 1912. Un hôpital à 8 lits se trouve sous la direction d'un médecin qui fait aussi le service des consultations à la population de Zavetnoïé et des villages de ses environs dans un rayon de 30 verstes. Il y aussi un infirmier et une sage-femme-infirmière. Les médicaments sont distribués gratuitement. Il y a au village aussi une pharmacie privée.

Le chiffre des consultations dépasse pour l'année dernière de peu 2000. Ce nombre, qui est bas pour le seul village de Zavetnoïé avec une population qui atteint presque 7000, est insignifiant par rapport à la population de toute la section médicale. Ce fait s'explique par l'indifférence de la population dont l'organisation médicale n'a pas réussi encore à gagner la sympathie et la confiance.

Outre les conditions de la vie du village de Zavetnoïé, il est nécessaire de toucher en quelques mots celles du village de Kitchkino, ce village étant peu éloigné du centre qui nous intéresse et ayant attiré notre attention à la suite d'une épizootie de peste des spermophiles qui y a sévi au cours de l'été 1913. Les conditions de la vie à Kitchkino ressemblent en général à celles de Zavetnoïé avec cette différence qu'il y a moins de jardins, que les maisons y sont plus petites et les conditions sanitaires y sont moins favorables.

Ce village a 200 maisons avec 1600 habitants.

Les mauvaises conditions économiques de la vie à Kitchkino entraînent une augmentation relative, par rapport au village de Zavetnoïé, du nombre d'ouvriers saisoniers que ce village envoie dans le gouvernement de Stavropol, la province du Don et la steppe de Kalmouks. Au point de vue épidémiologique Kitchkino présente un foyer permanent de différentes épidémies, surtout de diphtérie et de scarlatine.

En ce qui concerne les conditions sanitaires de la vie, il faut signaler qu'il y a une différence entre le village et les hameaux. Au village même, grâce aux conditions relativement bonnes des habitations et à l'aisance matérielle moyenne des habitants, les conditions sanitaires peuvent être considérées comme satisfaisantes; la proximité de la direction de la section médicale et de l'hôpital place Zavetnoïé, au point de vue sanitaire, au dessus de beaucoup de villages de l'arrondissement de Tchernoïarsk. Autres sont les conditions de la vie dans les hameaux: des mauvaises habitations, une mauvaise alimentation et surtout la proximité des rongeurs et le contact possible avec les spermophiles, parmi lesquels sévissent souvent des épizooties de peste, rendent la vie dans les hameaux peu satisfaisante au point de vue sanitaire épidémiologique. Les hameaux se trouvant dans un contact permanent avec le village, l'infection peut facilement être transportée à Zavetnoïé. C'est de cette manière en effet que se caractérise l'épidémie de peste de l'année 1912: les premiers cas se sont déclarés dans le hameau Bondarenkov, puis l'infection a été transportée à Zavetnoïé.

Il faut signaler encore un fait important au point de vue sanitaire épidémiologique: les habitants ne consultent pas volontiers le médecin, c'est pourquoi le commencement de presque chaque épidémie échappe à la surveillance médicale.

II.

L'organisation des travaux.

La mission, composée de deux médecins M-lle Aristarkhowa et M. S. Souvoroff et des étudiantes en médecine M-lles L. Witte et T. Boudilovitch est arrivée le 19 mars 1913 à Zavetnoïé, où s'est trouvé déjà l'instructeur en ce qui concerne la destruction des rongeurs A. Vostokoff, envoyé par l'Administration du Ministère de l'Agriculture au gouvernement d'Astrakhan.

Le lendemain de notre arrivée, nous avons reçu une partie de notre outillage de laboratoire et nous avons loué un appartement plus ou moins

convenable pour notre laboratoire. C'était une petite maison, construite d'après le type des habitations locales, en briques de saman et couverte de tuiles. Elle ne renfermait qu'une chambre avec deux fenêtres donnant sur la rue et deux sur la cour; elle était divisée en deux parties par une cloison en bois et une grande poêle russe. Cet appartement laissait à désirer beaucoup, mais il fallait le prendre, parce qu'il y avait peu de personnes qui voulaient louer leurs maisons pour un laboratoire. Nous avons aussitôt commencé à monter notre laboratoire, et nous avons commandé les meubles nécessaires: des tables, des armoires, des tabourets etc. Il fallait couvrir la terre de fer zingué. Pour isoler complètement la chambre d'autopsies du laboratoire, nous avons fait encore une cloison en bois; de telle manière une moitié a été occupée par le laboratoire et l'autre par deux chambres d'autopsies, complétement séparées l'une de l'autre[1]). La cuisine du laboratoire se trouvait dans la cour.

Tout cela a duré quelques jours, pendant lesquels l'instructeur a formé une équipe pour la chasse aux spermophiles de 5 ouvriers; un de ces ouvriers avait un cheval pour transporter de l'eau dans la steppe.

Le 25 mars nous ont été fournis les premiers spermophiles attrapés.

Pour attraper les spermophiles on a trouvé, d'après les conditions locales, le plus commode de les chasser en versant de l'eau dans leurs gîtes.

En remarquant sur un monticule un spermophile, l'ouvrier se dirige vers lui; dés que le spermophile voit l'homme s'approcher de lui, il se jette précipitamment dans un des trous les plus proches, habituellement dans un trou oblique. On marque cette place et on commence l'opération. Si c'est un trou oblique, alors il n'est pas profond et il suffit un seau d'eau pour forcer le spermophile de sortir. Si l'animal s'est sauvé dans un trou droit le problème se complique: les gîtes de cette sorte sont très profonds et se terminent par des galèries horizontales ou inclinées et un nid. Ici il faut beaucoup d'eau, et l'opération ne réussit pas souvent. L'opération même de chasser le spermophile en versant de l'eau est très simple, elle est la seule indiquée, si l'on dispose d'une quantité suffisante d'eau; après avoir versé un demi-seau, les ouvriers attendent quelque temps en écoutant silencieusement ce qui se passe dans le trou. Parfois le spermophile se dirige vers la sortie déjà après la première portion, mais le plus souvent il faut verser de nouvelles portions d'eau et ce n'est qu'alors que l'on entend le bruit que

---

1) Dans la suite cet appartement s'est montré trop petit, c'est pourquoi le laboratoire a été transféré dans une petite maison dans la cour a côté de la cuisine du laboratoire, tandis que nous avons laissé ici les chambres d'autopsies et la chambre pour les animaux infectés.

le spermophile fait en se sauvant à travers l'eau à la sortie; ici on l'attend attentivement, et au moment où sa tête apparait à la surface, on le prend avec des pinces on simplement avec la main dans un gant de cuir. Le spermophile humide et surpris ne se défend pas et s'il réussit à s'échapper du trou, ou l'attrape pour la plupart rapidement.

Le spermophile chassé du trou à l'aide de l'eau était placé dans une boîte. Conviennent le mieux à cet effet des boîtes de bois (qui servent au transport des animaux au laboratoire), avec deux couvercles à grillage de fer et une anse à porter au milieu.

De cette manière on réussissait à attrapper 30 à 50 spermophiles (et plus) par jour. Mais cette méthode avait le désavantage qu'il ne restait pas sur le spermophile humide de parasites qui présentaient un intérêt particulier pour nous. Il était, en outre, aussi intéressant de connaitre le gîte du spermophile, c'est pourquoi nous avons entrepris aussi des f o u i l l e s. Vu les conditions défavorables de terrain, on ne faisait des fouilles que 2 fois par semaine. Au début on réussissait de découvrir en creusant la terre 4 à 5 trous durant une journée de travail, dans la suite, lorsqu'on a acquis une certaine expérience, 8 à 10 trous. Mais on ne trouvait pas dans chaque trou découvert de spermophile, surtout à la fin de l'été, lorsqu'ils commençaient à se cacher pour l'hiver.

On commençait par les f o u i l l e s des trous droits où l'on faisait entrer nne tige de fer pouvant atteindre le fond. Les premières couches de terre se laissaient enlever rapidement, mais à partir de la troisièmé ou quatrième le travail marchait plus lentement. Les pelles de fer se cassaient souvent, lorsqu'on enlevait la terre argileuse dure comme une pierre. Le diamètre de la fosse dont on enlève la terre n'est pas au dessous de 1 sajène $^1/_2$ (2—3 mètres); la profondeur dépend de la longueur du trou droit sous lequel se trouve habituellement le nid; la profondeur est approximativement de 2 à 2 archines $^1/_2$ ($1^1/_2$—2 mètres).

En se cachant pour l'hiver, le spermophile fait au dessus du nid un passage droit qui se termine $^1/_4$ d'archine sous le sol. C'est la sortie préparée pour le printemps, lorsque le spermophile affaibli par le sommeil d'hiver n'aurait pas pu se déplacer du nid jusqu'à la surface. En été le trou est ouvert et on peut pénétrer par le trou jusqu'au nid; mais il arrive que l'on n'y trouve pas le spermophile; il faut le chercher alors dans les galéries latérales où l'animal se sauve habituellement, lorsqu'on le poursuit.

Le spermophile attrapé dans le nid était transporté avec le contenu du nid dans une boîte de zinc et placé séparément des autres. S'il n'y avait pas de spermophile dans le nid, on transportait le contenu du nid qui consiste d'herbe sèche, de paille, de verges, de feuilles etc. dans un bocal de verre que l'on fermait de toile. On plaçait les insectes, con-

stants et accidentels, que l'on trouvait, séparément dans des petits cylindres avec des bouchons et des étiquettes numerotées.

Les spermophiles attrapés de cette ou l'autre manière étaient apportés le soir au laboratoire, où on les plaçait dans des boîtes.

Nous avons préparé des boîtes en bois couvert de fer à l'intérieur (les spermophiles coupent par les dents le bois et même des planches épaisses). Le couvercle supérieur présente un cadre en bois avec un réseau de fer. Ces boîtes ont cet inconvénient qu'il est difficile de les nettoyer d'en haut, mais nous nous sommes arrêté à ce type de boîtes, parce qu'elles coûtent moins cher et elles sont faciles à manier. Certainement l'animal ne doit pas y séjourner longtemps, ce qui était le cas chez nous: on autopsiait les spermophiles à mesure qu'on les apportait, et lorsque toute la série a été autopsiée, on lavait les boîtes avec du lysol et les séchait au soleil. Lorsqu'on veut laisser séjourner les animaux plus longtemps, il faut avoir des boîtes avec un fond en fil de fer. Un serrurier du pays nous a fait des telles boîtes plus tard.

Au début on laissait les boîtes avec les spermophiles à ciel ouvert, mais vers la fin du mois de juillet un hangar spécial en bois avec des fenêtres et un plancher fut construit. Tous les animaux (il y avait alors 200) y furent placés.

Les spermophiles furent nourris d'herbe fraîche, que l'on fournissait tous les jours en grande quantité, car ils mangent beaucoup.

Outre les spermophiles, un autre rongeur le lièvre de terre ou la gerboise *(Alactaga saliens)* se trouve en grande quantité dans la steppe d'Astrakhan. Ces rongeurs très mobiles ne sortent de leurs trous à la surface du sol que le soir; pendant la journée ils restent dans leurs gîtes qu'ils creusent relativement peu profondément sous la terre en forme d'une galérie tortueuse. Il n'est pas difficile de les trouver en fouillant pendant la journée. On les apportait en assez grande quantité au laboratoire (15 à 25 animaux). Mais les gerboises ne vivent pas longtemps en captivité, elles succombent dans les cages le deuxième ou troisième jour; peu nombreux sont les animaux qui restent vivants plus d'une semaine. Une race grande de cet animal est plus résistante.

Au laboratoire à Zavetnoïé il y avait toute une nichée de gerboises qui fut mise bas dans la cage. De 6 petits 4 sont restés vivants plus de deux mois, et de ces quatre deux six mois. Les animaux que l'on apporte habituellement de la steppe succombent rapidement.

Les premières autopsies ont été faites le 24 mars; ont été autopsiés les spermophiles qui ont été envoyés par l'instructeur du village Kisselevka, situé 25 verstes du village de Zavetnoïé.

Dans la suite les autopsies se faisaient dans les deux chambres d'autopsies, à tour de rôle, par tous les membres de la mission.

En moyen on autopsiait environ 30 spermophiles par jour.

On tuait les spermophiles retirés des boîtes (dans des bocaux) par du chloroforme ou de l'éther et on les autopsiait après un court séjour dans du lysol; on faisait avant tout attention aux insectes qui parasitent sur le spermophile. S'il y avait des parasites, on les plaçait dans des petits cylindres de verre remplis d'alcool, avec des étiquettes portant la date et le № de l'animal d'après les procés-verbaux. Il a été déjà mentionné que les insectes se rencontraient très rarement sur les spermophiles attrapés à l'aide de l'eau.

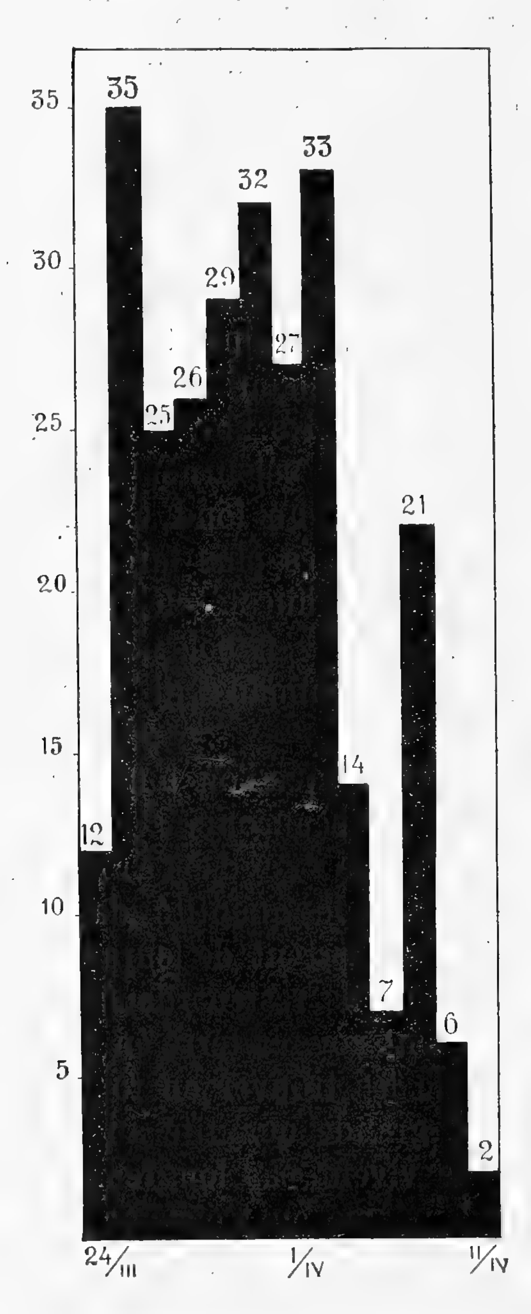


Fig. 1. Accroît des spermophiles. Quantité d'embryons trouvés chez les femelles pleines des spermophiles durant 2 semaines (du 24 mars au 11 avril 1913).

A l'autopsie on notait dans les procés-verbaux l'état des glandes, des poumons, de la rate, du foie et des autres organes, si l'on y constatait des déviations par rapport à la norme. On notait aussi, si c'était un mâle on une femelle, et au dernier cas s'il y avait des embryons et leur nombre. Nous avons observé des embryons pendant une periode un peu au-dessus de deux semaines du 24/III jusqu'au 11/IV (v. le diagramme №1).

Des préparations du sang et des frottis des organes ont été faites sur des lames. On ensemençait ensuite la gélose et le bouillon; habituellement on prélevait à cet effet avec une pipette de Pasteur du sang au coeur ou avec une öse de platine de l'organe (de la rate, du foie, aussi du bubon), coupé par un scalpel aigu.

Si l'on trouvait des changements anatomiques pathologiques dans les organes internes, on conservait ces organes dans des bocaux pour en faire des préparations d'après la méthode de Kaiserling.

Déjà à partir de la deuxième centaine, environ le 9 avril on observait sur les frottis des organes un bâtonnet se colorant fortement aux extrémités et ne prenant pas le Gram. Mais on n'a pas réussi à isoler une culture. Déjà à ce moment il y avait souvent des spermophiles avec des glandes hypertrophiées et parfois hypérémiées.

Durant le mois d'avril il a été autopsié 426 spermophiles sans résultats positifs quelconques.

Le 7 mai ont été apportés au laboratoire deux spermophiles malades et un mort, trouvés à une distance de 8 verstes du village de Zavetnoïé. De l'animal mort il a été isolé, pour la première fois, une culture du bacille pesteux; il faut ajouter que le tableau anatomique pathologique ne présentait rien de caractéristique de la peste; il n'y avait que des hémorragies sous-cutanées et une forte hypérémie de tous les organes internes. Sur les frottis il y avait un bâtonnet bipolaire typique.

Chez un des spermophiles malades apportés le même jour il a été constaté, pour la première fois, un bubon inguinal droit et des poumons avec des foyers necrotiques ponctués. Directement de ce spermophile il n'a pas été obtenu de culture de la peste; une émulsion des poumons de cet animal a été injectée sous la peau à un spermophile sain qui a succombé le 4ième jour; le sang de cet animal a donné une culture pure du bâtonnet de la peste.

Ces constatations accidentelles nous ont poussé à chercher instamment des spermophiles malades dans cette région. Le 10 mai on apporté de nouveau un spermophile mort dans la steppe, chez lequel on a trouvé a l'autopsie un bubon à l'aine; l'ensemencement a donné une culture du bacille pesteux.

Durant les deux semaines qui suivaient il a été autopsié 204 spermophiles; à ce moment on a apporté de nouveau un spermophile malade trouvé dans la steppe non loin du village de Zavetnoïé, approximativement au même endroit. Les glandes cervicales ont été trouvées hypertrophiées et hémorragiées; dans les poumons, le foie et l'intestin ont été trouvées des extravasations ponctuées, dans la rate des nodules. L'ensemencement avec le sang a donné une culture pure du bâtonnet de la peste.

Un spermophile apporté du même endroit le 24 mai a été trouvé aussi atteint de peste, mais l'épizootie de peste ne s'est pas propagée plus loin autour du village de Zavetnoïé, tandis que nous avons observé une forte épizootie de peste parmi des spermophiles à une distance de 12 verstes à l'est, prés du village de Kitchkino (v. plus loin).

Le 20 mai une deuxième équipe pour la chasse aux spermophiles, exclusivement pour le travail dans la région du village de Kitchkino a été formée.

Durant 6 mois il a été autopsié 1087 spermophiles, 312 gerboises, 5 putois et 8 souris.

Animaux d'expérience:

Souris blanches . . .	23
Souris grises	3

Spermophiles	. . .	21
Cobayes	. . . . .	4
Gerboises	. . . . .	15

280 trous ont été fouillés et 130 nids de spermophiles ont été trouvés.

Il a été recueillis environ 5000 puces.

III.

Epizootie de peste parmi les spermophiles dans l'arrondissement de Tcherny-Jar du gouvernement d'Astrakhan pendant l'été 1913.

L'épizootie, qui a sévi parmi les spermophiles près du villlage de Kitchkino, du canton de Zavetnoïé, de l'arrondissement de Tcherny-Jar, dépasse par ses dimensions tout ce qui a été observé jusqu'à présent par des chercheurs dans les steppes d'Astrakhan.

Le 28 mai l'équipe de chasseurs aux spermophiles, composée de 5 ouvriers, a apporté, outre 20 animaux sains attrapés à l'aide de l'eau, trois spermophiles morts. Au dire des ouvriers, au sud du village les spermophiles mouraient en grande quantité, il y avait à la surface du sol des cadavres rongés par des oiseaux. Les cadavres recueillis ont été assez frais; à l'autopsie chez un des animaux il a été constaté un bubon axillaire du côté gauche, l'hypérémie des autres glandes externes et des organes internes, chez les deux autres l'hypérémie et l'hémorragie des glandes et des extravasations ponctuées dans le tissu sous-cutané, les poumons, la rate et l'intestin. Du sang on a isolé des cultures pures du bacille pesteux.

Parmi les spermophiles apportés le même jour il y avait plusieurs malades qui ont succombé dans la cage le lendemain et le surlendemain. A l'autopsie il a été constaté un tableau caractéristique de la peste.

Le lendemain nous nous sommes persuadé personnellement que les ouvriers n'ont pas exagéré, en nous racontant ce qu'ils ont vu: durant 2 à 3 heures l'équipe a ramassé environ une dizaine de cadavres et deux spermophiles malades. Le soir du même jour encore 10 cadavres bons à autopsier ont été apportés, et 26 ont été détruits sur place. Le 20 autopsiés se sont montrés tous atteints de peste.

Vu les dimensions que l'épizootie a prises près du village de Kitchkino, nous avons réuni ensemble les deux équipes, en envoyant les ouvriers de Zavetnoïé à Kitchkino.

Ayant fait un cordon de 10 ouvriers se trouvant l'on de l'autre à une distance de 20 à 30 pas, nous avons pu entourer un espace assez considérable. Toute l'equipe a été pourvue de gants de cuir, de pinces et de boîtes de zinc. Ce jour il a été ramassé 53 cadavres; 24 bons à autopsier ont été envoyés au laboratoire, 23 se sont montrés atteints de peste.

Les cadavres des spermophiles étaient couverts habituellement d'insectes de toutes sortes; outre le „blaps" connu d'après les fouilles des gîtes de spermophiles, grouillent ici des fourmis, des scarabées de différentes espèces et des mouches. Parfois les insectes couvrent le cadavre de telle manière qu'on ne voit pas le cadavre même. Si le spermophile a succombé depuis longtemps, il est tellement rongé qu'il ne reste que le squelette. Nous avons ramassé ces insectes pour l'infection des spermophiles sains. (Ces expériences sont décrites plus bas).

Les cadavres des spermophiles sont dévorés non seulement par des insectes, mais aussi par des oiseaux de steppes.

La peste des spermophiles n'est pas, à ce qu'il paraît pathogène pour les oiseaux; du moins nous n'avons trouvé pas une seule fois à l'endroit de l'épizootie, où il y avait des troupes entières de corbeaux, un cadavre de cet oiseau; dans les autres endroits, autant que nous sachions, on n'a pas trouvé non plus de cadavres des oiseaux.

Tous les spermophiles et les gerboises morts furent ramassés par l'équipe; on mettait à part les cadavres plus on moins frais et entiers, bons à autopsier. Parfois on prenait pour les expériences aussi des cadavres rongés par des insectes. Tous les matérieux recueillis furent envoyés au laboratoire, les autres cadavres furent détruits.

Pour la désinfection on se servait d'abord de la chaux; à cet effet on creusait une fosse de profondeur de deux archines ($1^1/_2$ metres), on couvrait le fond de la fosse d'une couche de chaux, on y mettait les cadavres qui devaient être détruits; en haut on mettait de nouveau de la chaux; ensuite on arrosait tout abondamment d'eau et puis on couvrait la fosse de terre.

Dans la suite suivant le conseil du Professeur D. Zabolotny, on ramassait les cadavres en tas, on les arrosait de pétrole et on les incinérait dans la steppe.

A côte des spermophiles morts on trouvait aussi une grande quantité de gerboises mortes. Ces cadavres furent aussi envoyés au laboratoire pour l'autopsie; nous n'avons réussi à isoler de ces animaux pas une seule culture du bacille pesteux[1]).

---

1) En ce qui concerne les cultures isolées des cadavres des gerboises voir plus bas.

Lorsque nous nous sommes persuadé que l'épizootie qui sévissait parmi les spermophiles a beaucoup de commun avec la peste, nous en avons informé télegraphiquement le gouverneur, l'inspecteur sanitaire et l'administration locale. Signalant la possibilité de la transmission de l'infection par le spermophile à l'homme, nous avons prié de prendre les mesures necessaires pour recuillir les cadavres des rongeurs. Le commissaire de police envoyé par le chef de police de l'arrondissement a organisé, d'aprés nos indications, des travaux systématiques qui ont eu pour but de ramasser et des détruire les cadavres des rongeurs.

On a réussi à établir relativement vite les dimensions du foyer de l'épizootie. La plus grande quantité de spermophiles morts et malades a été observée au sud du village de Kitchkino à une distance de 3 à 4 verstes, au sud-ouest de 5 à 6 verstes, au sud-est à une distance 6 verstes. La région, où sévissait l'épizootie de peste, occupait principalement le pâturage du village de Kitchkino et des hameaux situés près de ce village en embrassant à une distance environ d'une demi-verste le terrain du village de Torgovoïe!

En nous dirigeant plus loin de l'endroit du foyer dans les directions indiquées plus haut, nous ne trouvâmes que des cadavres isolés des rongeurs, tandis quà l'endroit où sévissait l'épizootie on pouvait les ramasser par dizaines, ce qu'on voit sur le diagramme ci-dessous qui indique aussi que l'épizootie a atteint son point culminant les premières dates du mois de juin, lorsqu'on trouvait de 77 à 136 cadavres. Vers la fin du mois de juin l'épizootie est devenue plus faible et au début du mois de juillet elle a cessé tout à fait; après le 10 juillet malgré les recherches les plus soigneuses, il nous a été impossible de trouver même des cadavres isolés soit à la surface, soit en fouillant les trous.

Plusieurs fois nous avons trouvé dans la trous des cadavres des spermophiles tout à fait décomposés; les recherches au point de vue de la peste ont donné des résultats négatifs.

Durant cette épizootie on a trouvé des spermophiles atteints de peste aussi dans d'autres endroits du canton de Zavetnoïé, mais l'épizootie n'a pris nulle part des dimensions telles qu'au village de Kitchkino. Autour du village de Zavetnoïé on trouvait parfois des spermophiles atteints de peste, mais ce n'étaient que des cas isolés.

Durant une période de 1 mois $^1/_2$ du 28 mai au 10 juillet il a été ramassé prés du village de Kitchkino 1423 rongeurs morts, dont 920 spermophiles (*Spermophilus guttatus*) et 323 gerboises (*Alactaga saliens*).

Sur 196 spermophiles envoyés de Kitchkino au laboratoire et bons à autopsier 146 ($75^0/_0$) ont été trouvés atteints de peste.

Pendant la même période il a été envoyé au laboratoire 43 spermophiles morts et malades, trouvés dans les environs de Zavetnoïé et dans

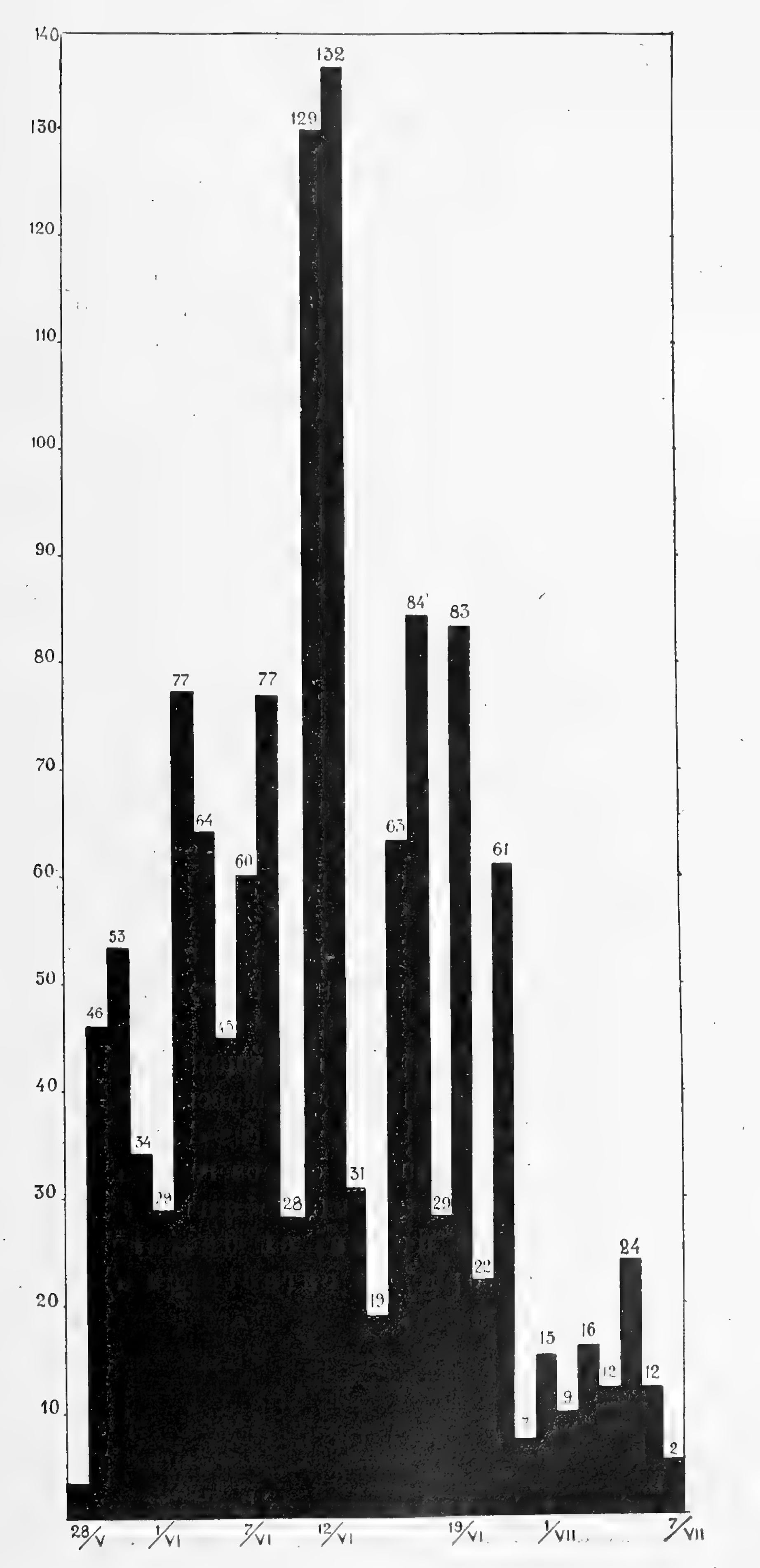


Fig. 2. (Nombre de cadavres des spermophiles et des gerboises) trouvés près du village de Kitchkino du 28 mai au 7 juillet 1913 durant l'épizootie de peste.

les hameaux les plus proches; sur ces 43 animaux 28 (54%) ont été trouvés atteints la peste.

Du village Kisselev situé à une distance de 25 verstes (kilometres) de Zavetnoïé il a été apporté 5 spermophiles morts et 3 trouvés au mi-chemin au village Torgovoïé, situé à une distance de 12 verstes de Zavetnoïé.

Sur ces 8 spermophiles 5 ont été atteints de peste.

Il faut encore mentionner qu'il y avait 4 spermophiles atteints de peste sur 5 trouvés à une distance de 35 verstes de Zavetnoïé (au sud-est) et 4 atteints de peste sur 10 spermophiles trouvés dans la steppe de Kalmouks à une distance de 45 à 50 verstes du village de Zavetnoïé.

Il a été ainsi en tout apporté au Laboratoire de Zavetnoïé durant l'épizootie qui a sévi parmi les spermophiles 262, dont 135 morts et 107 malades.

Sur ce nombre (262) 191 (78%) ont été reconnus atteints de peste (v. les procés verbaux des autopsies).

On se guidait dans le diagnostic de la peste chez les spermophiles sur: 1) les changements anatomiques pathologiques 2) l'analyse bactériologique.

Au premier cas on faisait surtout attention aux changements des glandes externes, du tissu sous-cutané, aux changements des organes internes, principalement de la rate, du foie, des poumons.

Au deuxième cas: à l'analyse microscopique des frottis des organes et à l'étude des cultures isolées.

On ne pouvait appliquer sur une grande échelle la vérification des cultures sur des animaux, vu l'insuffisance de cobayes, les animaux de choix dans ce cas.

Nous avons eu à notre disposition des souris blanches et des spermophiles, attrapés longtemps avant le commencement de l'épizootie.

Nous nous en sommes servi dans des cas douteux [1]).

En nous basant sur les résultats de nos recherches nous pouvons arriver à la conclusion que l'épizootie qui a sévi parmi les spermophiles aux mois de mai et de juin 1913 près du village de Kitchkino porte les caractères d'une épizootie de peste.

---

1) Toutes les cultures isolées au laboratoire de Zavetnoïé ont été vérifiées et étudiées au Fort Alexandre à Cronstadt.

IV.

Signes pathologiques chez les spermophiles qui ont succombé à la peste spontannée au cours de l'épizootie de l'année 1913.

Le premier spermophile, qui a permis d'isoler une culture pure du bacille pesteux et qui a été trouvé mort au commencement du mois de mai, a donné un tableau anatomique pathologique si peu caractéristique de la peste que sans la présence d'un bâtonnet typique bipolaire sur les frottis des glandes il aurait pu passé inaperçu. Les deux animaux suivants ont eu déjà des bubons inguinaux bien prononcés, des extravasations et des foyers nécrotiques sous forme de petits nodules blancs ou gris aux poumons, à la rate et au foie.

Sur 191 cas de peste chez les spermophiles (v. procés verbaux des autopsies) il y avait des bubons dans 67 cas, chez les autres animaux il a été observé: l'hypérémie et l'hypertrophie des glandes externes dans 64 cas; glandes hémorragiées plus rarement dans 35 cas; hypertrophie des glandes seule dans 24 cas; glandes sans changements dans 17 cas.

Il y avait surtout des bubons inguinaux de grandeur d'une lentille jusquà la grandeur d'une grande noix de forêt; autour de la glande compacte hypertrophiée, soudée aux tissus qui l'entourent, on observait habituellement une infiltration hémorragique. Il y avait, il est vrai rarement, des bubons d'une telle grandeur qu'ils remplissaient non seulement toute la fosse axillaire, mais l'oedème couvrait le thorax jusqu'à la moitié.

Bubons dans 67 cas dont:

1. Inguinaux:	
bilatéraux	11
à l'aine gauche	25
à l'aine droite	17
2. Axillaire:	
billatéraux	1
du côté gauche	6
du côté droit	3
3. Cervicaux	2
4. Multiples	2

Glandes externes:

1. Hypertrophiées et hypérémiées	64
2. Hypertrophiées	24
3. Hémorragiques	35
4. Sans changements	17

Glandes internes:

1. Mésentériques:

Hypéremiées et hypertrophiées	5
Hémorragiques	2

2. Rétropéritonéales:

Hypertrophiées et hypérémiées	2
Hémorragiques et hypertrophiées	2

Rate. La rate normale est très petite chez le spermophile, en longueur environ 20 à 30 mm. et en largeur 7 à 8 mm.; dans nos procés-verbaux l'hypertrophie de la rate est signalée dans plus de 100 cas, dont 51, en outre, avec des foyers nécrotiques sous forme de nodules (rate piquetée). Ce signe caractéristique de la peste: la rate hypertrophiée et piquetée est le plus fréquent. Habituellement la rate affectée est fortement hypérémiée et presque toute pleine de tubercules nécrotiques ou de nodules ponctués gris-blancs de différentes formes et grandeurs, dans certains cas il y a des nodules isolés plus grands. Leur grandeur n'est pas toujours la même, à partir d'une tête d'épingle jusqu'à un grain de millet et au-dessus.

La grandeur de la rate peut parfois atteindre des dimensions énormes. C'est ainsi que dans des cas subaigus la rate était si grande qu'elle occupait tout le côté gauche de la cavité péritonéale jusqu'au pli inguinal.

Foie. En ce qui concerne l'hypertrophie du foie, bien qu'elle fût constatée dans 26 cas, elle ne peut pas être considérée comme signe absolument caractéristique de la peste de spermophiles, car les procès-verbaux des cas non pesteux montrent que presque dans 30$^0/_0$ nous trouvons une foie hypertrophie, souvent avec des parasites.

Des nodules nécrotiques dans le foie se rencontent aussi plus rarement que dans la rate; nous les avons observés en tout dans 35 cas. Les nodules dans le foie sont très petits, de couleur blanc-gris, disséminés sur toute la surface ou, plus souvent, au bord inférieur du foie. Des extravasations n'ont été constatées que dans 5 cas, et des nodules entourés d'anneaux hémorragiques seulement 1 fois.

Changements dans le foie:

Hypertrophie sans autres changements	26
Hypertrophie et hypérémie	7
Hypérémie	10
Hypertrophie et nodules	4
Nodules	31
Extravasations	5
Nodules avec hémorrag.	1
Sans changements	17

Poumons. Ainsi qu'il suit des procés-verbaux, des changements dans les poumons ont été observés dans 143 cas; on pourrait ainsi dire que c'est le signe le plus fréquent, s'il était aussi caractéristique de la peste des spermophiles que la présence du bubon et de la rate piquetée. Mais les changements dans les poumons consistaient principalement dans une hypérémie diffuse ou plus souvent en plaques, qui font que les poumons ressemblent au marbre, car les plaques de l'hypérémie n'ont pas de limites bien définies, mais semblent être composées de morceaux de grandeur et forme inégales qui donnent aux poumons l'aspect d'un tissu „de marbre“. C'est ce terme que nous avons accepté dans nos procès verbaux. De tels poumons „de marbre“ ont été constatés dans 51 cas, tandis que l'hypérémie diffuse n'a été observée que dans 29 cas.

En ce qui concerne les poumons, il faut considérer comme changements caractèristiques de la peste de spermophiles des extravasations et des foyers nécrotiques sous forme de nodules qui sont, de même que dans la rate, de forme et de grandeur différentes. Il y avait des poumons qui était pleines partout (à la surface ainsi qu'à l'intérieur) de nodules grisâtres de grandeur d'une tête d'épingle et encore plus petits. Dans d'autres cas nous avons vu de grands nodules de grandeur d'un petit pois.

Dans 8 cas ont été observées des extravasations avec des nodules nécrotiques au centre, c'était un tableau bien caractéristique de la peste: un foyer nécrotique de grandeur d'une tête d'épingle s'élevant au-dessus de la surface du poumon et entouré d'un anneau hémorragique.

Changements dans les poumons:

Hypérémie diffuse	29	fois
Hypérémie en plaques	51	„
Hypérémie avec des nodules	9	„
Hypérémie avec des extravasations . .	5	„
Nodules	17	„
Extravasations	24	„
Nodules entourés d'anneaux hémorrag.	8	„
Sans changements	7	„

Intestin. Nous avons observé dans 45 cas des changements dans l'intestin, ils étaient accompagnés toujours de l'hypérémie du péritoine. Ces changements consistaient surtout dans une hypérémie bien prononcée de l'intestin, dans la plupart des cas de l'intestin grêle, dans 11 cas dans des hémorragies ponctuées de la paroi intestinale et plus rarement dans l'hypertrophie et l'hypérémie des glandes mésénteriques et rétropéritonéales. Des glandes mésenteriques hémorragiques se rencontraient plus rarement; nous n'avons observé que 2 fois l'hémorragie de ces glandes.

Il faut noter plusieurs cas où il n'y avait que des changements dans l'intestin, sans changements dans d'autres organes (cas 929, 747 et particulièrement 843).

Sur les frottis de la paroi intestinale il a été trouvé un grand nombre de bâtonnets bipolaires caractéristiques. Des cultures pesteuses ont été isolées par l'ensemencement de la gélose inclinée avec du sang.

Nous n'avons pas observé, abstraction faite de 2 cas d'hypérémie peu considérable, de changements dans l'estomac.

Changements dans l'intestin:

Hypérémie	33 fois
Extravasations dans la paroi intestinale . .	11 „
Hypérémie avec des extravasations	1 „

Changements dans le péritoine:

Hypérémie	36 fois

Changements dans l'estomac:

Hypérémie	2 fois.

Reins. A l'exception de 3 fois, il n'y avait pas de changements dans les reins; de ces trois cas il y avait dans 2 cas des nodules pas grands et dans 1 cas un rein hypertrophié, soudé au péritoine, avec des nodules de couleur blanc jaunâtre et de grandeur d'une tête d'épingle. Sur les frottis beaucoup de bâtonnets bipolaires typiques.

Les changements anatomiques pathologiques dans les organes des animaux qui ont succombé à la peste spontannée ne présentaient pas ainsi de tableau constant uniforme ou d'ensemble de symptômes, comme il est établi par les travaux de la commission anglaise pour la peste des rats (présence du bubon hémorragique, des hémorragies sous-cutanées, du foie piqueté, d'une rate hypertrophée, hypérémiée et piquetée).

Au contraire, nous avons observé un tableau anatomique pathologique excessivement varié chez des spermophiles pesteux. Il n'y avait que des cas peu nombreux où tout l'ensemble de symptômes a été établi; dans la plupart des cas, à côté des changements caractéristiques dans les poumons, il n'y avait pas de changements dans les organes de la cavité péritonéale.

Dans plusieurs cas tous les changements ne se réduisaient qu'à l'hypertrophie et l'hypérémie des glandes externes et dans des cas rares qu'à l'hypérémie de l'intestin.

V.

Etude microscopique.

A l'autopsie on faisait sur des lames des frottis de tous les organes qui présentaient des déviations par rapport à la norme.

Pour la plupart, ces frottis complètaient le tableau anatomique pathologique. Mais il y avait des cas où, en présence des changements anatomiques pathologiques peu importants, les frottis donnaient droit à supposer l'infection pesteuse, ce qui se confirmait par l'isolement du bacille pesteux du sang de l'animal.

Les frottis étaient colorés d'après Berestnev ou Pick-Jacobson. La dernière méthode donne des préparations particulièrement belles, en colorant les tissus en rose ou lilas et les bacilles en bleu. La coloration bipolaire se fait mieux ressortir par la méthode de Berestnev.

Les bacilles les plus beaux et les plus typiques ont été observés sur des frottis de la rate. Leur quantité était ici très grande; ils étaient disposés d'une manière diffuse, réunis souvent en deux et couvrant parfois toute la préparation. Parfois il y avait sur les frottis de la rate des bacilles plus courts ou même rappelant tout à fait des coccus, mais un peu plus grands et colorés d'une manière plus intense à la périphérie.

Il y a des jolis bacilles sur les préparations du sang; ici il y en a souvent beaucoup.

Sur les frottis des bubons il y a, pour la plupart, beaucoup de bâtonnets assez jolis.

Il n'en est pas de même en ce qui concerne les frottis du foie. Ici se rencontraient des formes d'involution, des formes sphériques se colorant faiblement, des demi-lunes ou des formes „rongées“.

On rencontrait des formes d'involution aussi dans d'autres organes, mais beaucoup plus rarement.

On constate des foyers de bacilles pesteux le plus souvent sur les frottis du foie.

Dans certains cas les portions contenant des foyers de bacilles dépassent de beaucoup le tissu de l'organe, on voit ainsi des espaces tous remplis de bacilles entre les rares cellules altérées de l'organe.

Souvent des glandes, seulement hypérémiées, donnaient sur les frottis une grande quantité de bâtonnets typiques; on rencontrait ici aussi des formes d'involution.

Il faut signaler aussi plusieurs cas d'hypérémie de l'intestin, où les frottis de la paroi intestinale ont donné une grande quantité de bacilles bipolaires, très polymorphes.

Longtemps avant le commencement de l'épizootie il nous arrivait à observer sur les frottis de la rate et des glandes hypertrophiées des bacilles bipolaires suspects, ne prenant pas le Gram.

C'est ainsi que dans les procés-verbaux des cas 205, 206 et 211, autopsiés le 9 avril, sont signalés sur les frottis des glandes et de la rate des bacilles bipolaires typiques, mais on n'a pas réussi à obtenir des cultures dans ces cas.

Vu le fait qu'avant et après l'épizootie on rencontrait sur des frottis des bacilles suspects ressemblant aux bâtonnets pesteux dans des cas où on ne réussissait pas à isoler la culture du bacille pesteux, la seule présencé du bâtonnet bipolaire était considérée comme insuffisante pour le diagnostic de la peste, même au plus fort de l'épizootie.

Il faut, du reste, faire remarquer que dans ces cas on n'obtenait pas d'autres bacilles; habituellement il n'y avait pas de développement à l'ensemencement.

C'est pourquoi, à des rares exceptions près, nous n'avons considéré comme des cas pesteux que les cas où on obtenait la culture du b a c i l l e p e s t e u x ou les cas, où les changements anatomiques pathologiques ne laissait aucun doute qu'il s'agissait d'un cas de peste.

VI.
Etude bactériologique.

On se servait habituellement de la gélose inclinée que l'on ensemençait avec le sang et les organes. On prélevait le sang au coeur avec une pipette de Pasteur, on plélevait de la même manière le contenu des glandes; pour ensemencer avec le contenu des autres organes, on se servait d'une anse de platine, l'organe étant coupé par un scalpel stérile. On faisait aussi des ensemencements avec des fragments des organes dans des boîtes de Petri; de cette manière on obtient des colonies tout à fait isolées. Il faut noter que les meilleurs résultats ont été obtenus, pour la plupart, aux ensemencements avec le sang, c'est pourquoi on se servait de ces cultures pour les recherches ultérieures.

On laissait les cultures se développer à l'étuve à la température de 28°.

Après 24 heures il y avait sur la gélose un développement faible, parfois à peine visible; après 48 heures le développement est déjà assez bon sous forme de petites colonies blachâtres, demi-transparentes ne fusionnant pas, sur lesquelles on voit à un faible grossissement le bord crenelé de la couche périphérique qui entoure sous forme d'une frange la partie centrale granuleuse. On voit mieux cette frange sur la gélatine, mais les conditions de température du pays (40° à 45° C.) ne permet-

taient pas de travailler avec la gélatine. C'est pourquoi nous nous sommes servi pour les ensemencements de la gélose et du bouillon.

Dans le bouillon, les cultures isolées des spermophiles pesteux se développent de la même manière que les cultures de la peste humaine, c. a. d. ne troublent pas le bouillon, mais donnent le lendemain de petits flocons qui se déposent aux parois du tube à essai. Sous le microscope les cultures en bouillon se présentent sous forme de bâtonnets courts, bipolaires, arrondis aux extremités, réunis en chaînes, ordinairement pas trop longs (4 à 6 bâtonnets); il y avait aussi des cultures dont les chaînes étaient composées de 15 à 22 bâtonnets. De 262 spermophiles qui ont été fournis au laboratoire de Zavetnoïé au cours de l'épizootie, ont été trouvés pesteux 191, dont les procés-verbaux sont cités ci-après. Dans 175 sur ces 191 cas on a réussi à isoler des cultures du bacille pesteux directemeut des animaux malades. Dans les autres cas on se basait, en établissant le diagnostic, ou bien sur le tableau anatomique pathologique et l'examen microscopique (cas 862, 863, 950), ou bien sur les cultures obtenues à l'infection des animaux sains avec des matériaux prélevés aux animaux malades (cas 826).

Toutes ces cultures (à des rares exceptions près) ont été vérifiées par l'agglutination avec le sérum pesteux préparé au Fort Alexandre I. Les cultures, isolées des spermophiles pesteux, ont été agglutinées par ce sérum dans une dilution de 1 : 100 et 1 : 200; certaines cultures ont été agglutinées aux reensemencements suivants sur des milieux artificiels dans une dilution de 1 : 400 et 1 : 500.

Il nous a été impossible de vérifier nos cultures à Zavetnoïé par l'infection des cobayes; nous l'avons fait plus tard au laboratoire du Fort; sur 84 cultures que nous avons fait transporter, on a fait passer par des cobayes 35.

L'infection se faisait d'après la méthode autrichienne, en frictionnant la peau du ventre, et aussi par l'injection sous-cutanée d'une quantité déterminée de culture. Pour l'injection on prenait 0, cm. c. 5 d'une émulsion d'une anse d'une culture de 24 heures pour 10 cm. c. d'eau physiologique, c. a. d. $^{1}/_{20}$ d'une anse. Au premier cas, ainsi qu'au second les cobayes tombaient morts 5 à 6 jours après l'infection. On obtenait un tableau anatomique pathologique caractéristique de la peste: bubons hémorragiques, rate hypertrophiée, hypérémiée avec des nodules nécrotiques (rate piquetée), foie hypertrophié avec des foyers nécrotiques; dans les poumons des hémorragies et des nodules nécrotiques. Les bubons étaient parfois très grands chez les cobayes. On observait aussi l'hypertrophie et l'hémorragie des glandes rétropéritonéales.

Ce sont ces données qui permettent de déclarer les cultures, isolées des spermophiles qui ont succombé à la peste spontannée, identiques aux cultures de la peste.

Les procès-verbaux des examens des spermophiles pesteux.

Annexe au rapport de la mission de Zavetnoïé par M-lle O. Aristarkhov (1913).

1. Spermophile, mâle trouvé mort dans la steppe, à une distance de 8 verstes de Zavetnoïé. Frais. Poumons: hypérémie en plaques. Sur les frottis des glandes et de la rate un bacille bipolaire typique. Culture pure du *bacille pesteux*.
2. Bubons à l'aine gauche et dans la région axillaire gauche. Poumons en foyers nécrotiques ponctués.
3. Dans la steppe près de Zavetnoïé. Bubon à l'aine gauche. Sur les frottis du bubon beaucoup de bacilles bipolaires. Culture pure du *b. pesteux* isolée du sang et du bubon.
4. Au cou chaîne de glandes hémorragiques soudés ensemble. Poumons en hémorragies. Rate en petits nodules. Culture pure du *b. pesteux*.
5. Dans la steppe près de Zavetnoïé. Femelle malade. Bubon inguinal droit. Sur les frottis du bubon beaucoup de bacilles bipolaires typiques. Culture pure du *b. pesteux* isolée du sang.
6. Mâle mort du village de Kitchkino. Bubon axillaire gauche. Sur le frottis du bubon bac. bipolaires. Cult. pure du *b. pesteux* isolée du sang.
7. Poumons et intestin en extravasations ponctuées. Sur les frottis du bubon bac. bipol. typiques. Cultures pures du *b. pesteux* isolées du sang et des poumons.
8. Poumons hypérémiés en petits foyers nécrotiques. Intestin en extravasations ponctuées. Cultures du *b. pesteux* isolée du sang.
9. Glandes inguinales hypertrophiées, hémorragiques. Culture pure du *b. pesteux* isolée du sang.
10. Bubon axillaire gauche. Poumons hypérémiés en nodules blancs. Sur les frottis du bubon beaucoup de bacilles bipol. typiques. Culture pure du *b. pesteux* isolée du sang.
11. Patte droite postérieure plus courte, contractée. A droit bubon axillaire, de grandeur de noix de forêt. Poumons: hypérémie en plaques. Hémorragie sur l'épicarde. Sur les frottis du bubon beaucoup de bacilles bipol. typique. Culture pure du *b. pesteux* isolée du sang.
12. Bubon inguinal gauche externe. Sur les frottis du bubon beaucoup de bac. bipolaires. Cult. pure du *b. pesteux* isolée du sang.
13. Poumons en grands foyers blancs nécrotiques. Foie hypertrophié, à sa surface inférieure plusieurs nodules blancs.
14. Poumons et intestin avec des foyers hémorragiques. Cult. pure du *b. pesteux* isolée du sang.
15. Intestin avec des petits foyers d'extravasations. Cult. impure isolée de la rate.
16. Poumons avec des foyers hémorragiques et des nodules blancs ponctués. Rate avec de petits nodules blancs. Culture du *b. pesteux*.
17. Poumons avec de grands foyers d'extravasations, dont le centre est formé par des nodules blancs. Foie et rate avec des nodules blancs. Sur les frottis des bac. bipol. typiques. Cult. pure du *b. pesteux* isolée du sang.
18. Près du village Kitchkino. Bubon inguinal gauche. Intestin avec des foyers d'extravasations. Sur les frottis du bubon et du sang beaucoup de bac. typiques. Cult. pure du *b. pesteux* isolée du sang.
19. Glande inguinale hyperémiée, autour tissu sous-cutanée oedemateux. Frottis du sang et de la glande avec des bac. bipol. typiques. Cult. du *b. pesteux* isolée du sang.
20. Rate et foie avec des foyers blancs ponctués. Cult. du *b. pesteux* isolée du sang.
21. Glande axillaire gauche hypertrophiée. Culture du *b. pesteux*.

22. Glande inguinale droite un peu hypertrophiée. Cult. du *b. pesteux* isolée du sang.
23. Poumons avec des portions nécrotiques. Cult. du *b. pesteux* isolée du sang.
24. Bubon inguinal gauche. Cult. du *b. pesteux* isolée du bubon.
25. Complètement putrifié. Cult du *b. pesteux* isolée du sang.
26. Intestin avec des extravasations ponctuées. Cult. du *b. pesteux* isolee du sang.
27. Hémorragies dans le tissu sous-cutanée. Poumons: hypérémie en plaques. Cult. du *b. pesteux.*
28. Oedème du tissu sous-cutanée. Glandes un peu hypertrophiées. Cult. du *b. pesteux.*
29. Rate avec des nodules. Cult. du *b. pesteux.*
30. Poumons pâles avec des hémorragies ponctuées. Foie hypertrophié avec des nodules blancs ponctués, de même la rate, seulement il y a ici plus de nodules et ils sont plus grands. Intestin avec des foyers d'extravasations. Sur les frottis de tous les organes une grande quantité de bacilles bipol. typiques. Cult. pure du *b. pesteux* isolée du sang.
31. Nez et bouche en sang. Hémorragie dans la cavité de la plèvre. Cult. du *b. pesteux* isolée du sang.
32. Glande inguinale gauche hypertrophiée et hyperémiée. Poumons: hypérémie en plaques. Cult. pure du *b. pesteux* isolée du sang.
33. Glande gauche cervicale hypertrophiée, hémorrag. avec un foyer nécrotique. Foie avec des petits nodules blancs, de même la rate, les nodules y sont seulement plus grands et en plus grande quantité. Partie de l'intestin en foyers d'extravasations. Sur les frottis du foie et de la rate beaucoup de bâton. bipol. typiques. Cult. pure du *b. pesteux* isolée du sang.
34. Bubon droit inguinal. Poumons: hypérémie en plaques. Foie et rate avec des nodules blancs. Sur les frottis du bubon, de la rate et du sang beaucoup de bac. bipol. typiques. Culture du *b. pesteux.*
35. Bubon inguinal gauche. Poumons pâles avec des hémo ragies ponctuées. Rein gauche hypertrophié avec des nodules hémorragiques. Sur les frottis du sang, de la rate et de la glande beaucoup de bac. bipol. typiques. Cult. du *b. pesteux* isolée du sang.
36. Foie avec des nodules blancs, ponctués. Culture du *b. pesteux* isolée du sang.
37. Bubon inguinal gauche. Cnlt. du *b. pestenx* isolée du sang.
38. Rate avec des nodulas blancs. Sur les frottis de la rate bac. bipolaires. Cult. du *b. pesteux* isolée du sang.
39. Culture du *b. pesteux.*
40. Poumons hypérémiés. Cult. du *b. pesteux.*
41. Glandes cervicales hémorragiques, soudées ensemble. Sur les frottis des glandes et des poumon bac. pipolaires. Cult. du *b. pesteux* isolée du sang.
42. Dans la cavité péritonéale exsudat sanguinolent. Cult. du *b. pesteux* isolée du sang.
43. Bubon inguinal gauche. Sur les frottis du bubon de la glande, de la rate bâton. bipol., il y a des formes d'involution. Cult. du *b. pesteux.*
44. Glande inguinale gauche hypertrophiée. Rate hypertrophiée, située le long de l'épine dorsale, adhère à la paroi abdominale postérieure. Cult. du *b. pesteux.*
45. Patte antérieure gauche fortement enflée enflammée à partir de la fasse axillaire. Glandes hypertrophiées. Cult. du *b. pesteux.*
46. Fortement putrifié. Cult. du *b. pesteux.*
47. Bubon axillaire gauche. Sur les frottis du bubon bâton. bipol. typiques. Cult. du *b. pesteux.*
48. Bubon inguinal gauche. Poumons hypérémiés avec des nodules nécrotiques gris. Sur les frottis du bubon et de la glande bac. bipolaires. Cult. du *b. pesteux* isolée du sang du bubon.

49. Malade. Poumons avec des nodules gris. Rate foncée, hypertrophiée, adhère, à la paroi abdominale postérieure. Sur le frottis des poumons bac. bipolaires. Cult. du *b. pesteux* isolée du sang.
50. Bubon ing inal gauche. Patte postérieure gauche adhère à partir de l'articulation, inguinale à la paroi abdominale. Sur les frottis du bubon bac. bipolaires.
51. Bubon inguinal droit. Poumons avec des foyers d'extravasations. Sur les frottis du bubon, des glandes et de la rate bac. bipolaires. Cult. du *b. pesteux* isolée du sang.
52. Foie hypertrophié avec de petits nodules blancs. Rate avec des nodules plus grands. Cult. du. *b. pesteux.*
53. Glandes inguinales hypertrophiées. Rate pâle avec des tâches foncées. Cult. du *b. pesteux.*
54. Malade. Bubon inguinal droit. Sur les frottis du sang, de la rate et du bubon beaucoup de bac. bipolaires. Cult. du *b. pesteux* isolée du sang.
55. Poumons en tâches foncées. Cult. du *b. pesteux.*
56. Bubon inguinal droit. Poumons avec des foyers d'extravasations. Rate avec des nodules blancs. De même le foie. Sur les frottis du bubon bacilles bipolaires. Cult. du *b. pesteux.*
57. Poumons avec des portions nécrotiques blanches.
58. Poumons avec une hypérémie en plaques.
59. Dans la cavité pleurale il y a du sang.
60. Intestin avec des foyers d'extravasations. Cult. du *b. pesteux.*
61. Bubon inguinal gauche. Poumons avec des foyers nécrotiques ponctués. Sur les frottis du bubon et de la rate bac. bipolaires. Cult. du *b. pesteux.*
62. Bubon inguinal droit. Poumons avec des foyers nécrotiques ponctués. Rate énorme (a augmenté de 3 fois), foncée, toute en petits nodules blancs. Sur les frottis de la rate et du bubon beaucoup de bac. bipol. typiques. Cult. pure du *b. pesteux* isolée du sang.
63. Glandes cervicale hémorragiques, fortement hypertrophiées, soudées ensemble. Cult. du *b. pesteux.*
64. Dans les poumons grands foyers d'hémorragies. Cult. du *b. pesteux.*
65. Glandes cervicales et axillaires un peu hypertrophiées. Cult. du *b. pesteux.*
66. Glandes cervicales hémorragiques et hypertrophiées. Exsudat dans la cavité péritonéale. Cult. du *b. pesteux.*
67. Bubon axillaire droit.
68. Poumons avec de petits nodules blancs. Foie foncé avec des nodules ponctués. Rate toute en nodules nécrotiques de différentes forme et grandeur. Sur les frottis de la rate grande quantité de bacilles bipolaires. Cult. pure du *b. pesteux* isolée du sang.
69. Poumons avec de petits nodules blancs. Foie hypertrophié, foncé, par endroits des petits nodules blancs ponctués. Grande rate foncée toute en nodules. Sur les frottis de la rate et du sang beaucoup de bac. bipol. typiques. Cult. pure du *b. pesteux* isolée du sang.
70. Toutes les glandes hypertrophiées et hypéremiées. Cult. du *b. pesteux.*
71. Glandes externes fortement hypertrophiées et hypérémiées. Cult. du *b. pesteux.*
72. Glandes axillaires hypertrophiées et fortement hypérémiées. Cult. du *b. pesteux.*
73. Frais. Sans changements. Sur les frottis de la rate et du sang il y a des bac. bipolaires. Cult. du *b. pesteux* isolèe du sang.
74. Foie et rate hypertrophiés. Cult. du *b. pesteux* isolée du sang.
75. Frais. Bubon droit inguinal. Poumons fortement anémiques avec des foyers d'extravasations. Rate hypertrophiée toute en nodules gris. Dans le foie des nodules beaucoup moins grands. Cult. du *b. pesteux.*
76. Toutes les glandes hypertrophiées, surtout les glandes axillaires. Cult. du *b. pesteux.*

77. Poumons avec des foyers d'hémorragies et des nodules blancs. Rate hypertrophiée avec des nodules blancs. Foie pâle avec des petits foyers nécrotiques. Intestin avec des petites hémorragies. Cult. du *b. pesteux.*
78. Poumons avec des foyers d'hémorragies et des nodules blancs à leur centre. Rate un peu hypertrophiée, toute en nodules nécrotiques de grandeur différente. Foie fortement hypertrophié avec des nodules.
79. Bubon inguinal droit. Cult. du *b. pesteux.*
80. Glandes inguinales hypertrophiées. Cult. du *b. pesteux.*
81. Bubon inguinal gauche. Poumons: hypérémie en plaques. Cult. du *b. pesteux.*
82. Glandes axillaires et glande cervicale droite hypertrophiées. Poumons avec des hémorragies et des foyers nécrotiques. Sur les frottis de les glandes et des poumons des bac. bipol. Cult. du *b. pesteux.*
83. Poumons avec des hémorragies. Cult. du *b. pesteux.*
84. Glandes inguinales et axillaires hypertrophiées. Poumons avec des foyers d'hémorragies. Cult. du *b. pesteux.*
85. Glandes, particulièrement glandes cervicales, hypertrophiées et hypérémiées. Cult. du *b. pesteux.*
86. Toutes les glandes hypertrophiées et hypérémiées. Cult. du *b. pesteux.*
87. Poumons hypérémiés. Cult. du *b. pesteux.*
88. Extravasations dans l'intestin; glandes mésentériques hypertrophiées. Cult. du *b. pesteux.*
89. Toutes les glandes hypérémiées. Foie et rate hypertrophiés. Sur les frottis de la rate et des poumons bac. bipolaires. Cult. du *b. pesteux.*
90. Poumons: hypérémie en plaques. Foie hypertrophié avec des nodules blancs, de même la rate. Cult. du *b. pesteux.*
91. Poumons anémique, lobe droit supérieur hypérémié. Rate et foie pâles avec des nodules blancs. Cult. pure du *b. pesteux.*
92. Poumons en foyers d'hémorragies. Cult. du *b. pesteux.*
93. Glandes inguinale gauche hémorragique. Poumons: hypérémie en plaques. Cult. du *b. pesteux.*
94. Rate toute en nodules. Dans le foie de petits nodules blancs isolés. Cult. du *b. pesteux.*
95. Bubons inguinaux de deux côtés. Cult. du *b. pesteux.*
96. Intestin en hémorragies ponctuées.
97. Glande inguinale gauche hypertrophiée avec des petits nodules nécrotiques blancs. Poumons hypérémiés avec des extravasations ponctuées, ayant au centre des nodules blancs. Rate énorme foncée, toute en nodules nécrotiques. Foie clair avec des nodules blancs de grandeur différente. Sur les frottis de la rate et du foie bac. bipolaires peu nombreux.
98. Bubons inguinaux, du côté gauche des glandes inguinales interne (inférieure) et externe (supérieure). Poumons avec des extravasations ponctuées. Foie avec des nodules blancs. Cult. du *b. pesteux.*
99. Bubon inguinal gauche. Rate foncée, toute en nodules nécrotiques. Foie avec des nodules nécrotiques. Foie avec des nodules plus rares. Cult. du *b. pesteux.*
100. Rate hypertrophiée avéc des nodules blancs; de même le foie. Cult. du *b. pesteux.*
101. Hémorragies dans le tissu sous-cutané. Cult. du *b. pesteux* isolée du sang.
102. Poumons: hypérémie en plaques.
103. Bubon inguinal droit. Cult. pure du *b. pesteux* isolée du sang.
104. Bubons inguinaux. Rate et foie hypertrophiés avec des nodules blancs. Cult. pure du *b. pesteux* isolée du sang.
105. Bubon inguinal droit. Cult. du *b. pesteux* isolée du sang.

106. Du côté gauche bubon cervical. Cult. du *b. pesteux* isolée du sang.
107. Rate hypertrophiée avec des foyers nécrotiques. Hypérémie de l'intestin; glandes mésénteriques hypertrophiées. Cult. du *b. pesteux* isolée du sang.
108. Glandes sans changements. Rate avec des foyers nécrotiques. Intestin fortement hypérémié.
109. Bubon inguinal droit. Cult. du *b. pesteux* isolée du sang.
110. Poumons fortement hypérémiés avec des nodules blancs. Rate très grande avec des foyers nécrotiques. Foie hypertrophié avec des nodules blancs. Cult. du *b. pesteux* isolée du sang.
111. Poumon: hypérémie en plaques. Foie avec des nodules blancs. Cult. du *b. pesteux.*
112. Poumons: hypérémie en plaques. Foie avec des nodules blancs. Cult. du *b. pesteux.*
113. Intestin hypérémié avec des extravasations dans la paroi de l'intestin grêle. Glandes mésentériques hypertrophies, hémorragiques. Glandes rétropéritonéales hypertrophiées, hypérémiées. Cult. du *b. pesteux.*
114. Intestin et peritoine hypérémiés. Glandes retropéritonéales hémorragiques. Cult. du *b. pesteux.*
115. Frais. Bubons inguinaux. Poumons pâles avec des hémorragies et des foyers nécrotiques. Foie grande foncé avec des tâches nécrotiques diffuses. Rate hypertrophiée foncée. Cult. du *b. pesteux* isolée du sang.
116. Frais. Bubon inguinaux bilatéraux et du côté droit encore dans la glande externe (supérieure) bubon hémorragique. Poumons hypérémiés avec des hémorragies et des nodules blancs. Foie grand foncé avec des nodules blancs. Cult. pure du *b. pesteux* isolée du sang.
117. Grand bubon inguinal du côté gauche. Poumons pâles avec des hémorragies ponctuées. Foie hypertrophié avec des nodules blancs. Cult. du *b. pesteux* isolée du sang.
118. Bubon axillaire gauche. Poumons avec des foyers nécrotiques. Foie avec de grands nodules blancs. Rate hypertrophiée avec de petits nodules. On n'a pas réussi à obtenir la culture.
119. Intestin fortement hypéremié, surtout l'intestin grêle. Glandes mésentériques soudées ensemble. Cult. du *b. pesteux.*
120. Bubon inguinal droit. Poumons avec de grandes hémorragies. Rate avec des nodules. Cult. du *b. pesteux.*
121. Glandes axillaires hypertrophiées. Cult. du *b. pesteux.*
122. Glandes inguinales hémorragiques. Cult. du *b. pesteux.*
123. Bubons cervicaux. Poumons fortement hypérémiés avec des petits foyers nécrotiques. Foie avec de grands nodules, de même la rate et le rein. Cult. pure du *b. pesteux* isolée du bubon.
124. Grand bubon inguinal du côté gauche. Grand foie clair avec des nodules blancs ponctués. Rate hypertrophiée, foncée, toute en nodules. Cult. pure du *b. pesteux* isolée du sang.
125. Glandes inguinales hémorragiques. Cult. du *b. pesteux* isolée de la glande.
126. Bubons inguinaux bilatéraux. Foie avec des nodules blancs. Cult. du *b. pesteux.*
127. Bubon inguinal droit énorme. Poumons hypérémiés avec des foyers d'hémorragies bien accentués. Cult. du *b. pesteux.*
128. Bubon inguinaux. Poumons hypérémiés avee des foyers d'hémorragies. Cult. du *b. pesteux.*
129. Du côté droit glandes axillaires un peu hypertrophiées, hémorragiques. Cult. du *b. pesteux.*
130. Clandes cervicales hémorragiques. Cult. du *b. pesteux.*
131. Bubon inguinal gauche, pas grand. Cult. du *b. pesteux* isolée du sang.
132. Glande axillaire un peu hypertrophiée du côté gauche, hémorragique avec une

désaggrégation nécrotique à l'intérieur. Tous les organes des cavités thoracique et péritonéale (l'intestin excepté) sont hypérémiés, ils ont de grands nodules blancs et sont soudés avec le diaphragme et entre cux. Dans la cavité pleurale exsudat sanguinolent; dans la cavité péritonéale exsudat visqueux. Rein gauche avec des nodules blancs ponctués. Cult du *b. pesteux* isolée du sang et des glandes.

133. Glande inguinale droite hémorragique. Cult. du *b. pesteux.*
134. Bubon inguinal gauche. Cult. du *b. pesteux* isolée du sang.
135. Glandes inguinales hypérémiées. Cult. du *b. pesteux.*
136. Poumons fortement hypérémiées avec des foyers nécrotiques. Cult. du *b. pesteux.*
137. Poumons avec des extravasations. Rate en petits foyers d'extravasations. Cult. du *b. pesteux.*
138. Bubon inguinal gauche. Cult. du *b. pesteux* isolée du sang.
139. Bubon inguinal gauche. Cult. du *b. pesteux.*
140. Bubon inguinal gauche. Sur les frottis du bubon bac. bipolaires.
141. Glandes inguinales fortement hypertrophiées. Rate très grande, foncée, toute en nodules blancs. Sur le frottis de la glande et de la rate bâton. bipolaires.
142. Grand bubon à l'aine gauche. Poumons hypérémiés avec des foyers d'extravasations. Cult. du *b. pesteux.*
143. Poumons hypérémiés avec des extravasations. Cult. du *b. pesteux* isolée du sang.
144. Hypérémie diffuse des poumons. Cult. du *b. pesteux.*
145. Bubons inguinaux. Poumons hypérémiés avec des hémorragies ponctuées. Rate hypertrophiée avec des nodules blancs. De même de foie. Cult. du *b. pesteux* isolée du sang.
146. Au bord inférieur des poumons des extravasations ponctuées. Dans la cavité péritonéale un exsudat sanguinolent. Cult. du *b. pesteux* isolée du sang.
147. Bubon inguinal gauche. Cult. du *b. pesteux.*
148. Du côté gauche bubon axillaire. Bâton. bipol. *b. pesteux* isolée du bubon.
149. Rate et foie gros, hypérémiés. Cult. du *b. pesteux.*
150. Poumons hypérémiés avec des nodules nécrotiques. Cult. du *b. pesteux.*
151. Glandes axillaires hémorragiques, autour une infiltration sanguinolente. Poumons hypérémiés avec des foyers nécrotiques. Cult. du *b. pesteux.*
152. Glandes axillaires hémorragiques. Cult du *b. pesteux.*
153. Poumons: hypérémie en plaques.
154. Du côté droit bubon inguinal. Sur les frottis du bubon bac. bipolaires.
155. Rate très grande (presque jusqu'au pli inguinal) toute en nodules nécrotiques, soudée à la paroi abdominale et aux tissus adjacents. Cult. du *b. pesteux* isolée du sang.
156. Glandes inguinales hypertrophiées et hypérémiées.
157. Poumons bien foncés avec des nodules blancs.
158. Péritoine en foyers d'extravasations. Cult du *b. pesteux.*
159. Bubon inguinal gauche. Cult. du *b. pesteux.*
160. Bubon externe de la glande inguinale (supérieure). Rate hypertrophiée en foyers nécrotiques. Exsudat sanguinolent dans la cavité péritonéale. Cult du *b. pesteux.*
161. Bubon inguinal droit. Poumons anémiques avec des nodules blancs. Cult. du *b. pesteux* isolée du sang.
162. Glandes cervicales hémorragiques, hypertrophiées. *B. pesteux* isolé du sang.
163. Poumons hypérémiés avec des rares foyers nécrotiques. Rate et foie foncés avec des nodules blancs de grandeur différentes. Cult. du *b. pesteux* isolée du sang.
164. Glandes cervicales et glande axillaire gauche hémorragiques. Poumons très pâles avec des foyers nécrotiques rares. Cult. du *b. pesteux* isolée du sang.
165. Rate n'est pas hypertrophie, nodules rares. Foie gros en petits nodules. Cult. du *b. pesteux.*

166. Rate et foie hypertrophiés. Cult. du. *b. pesteux.*
167. Glandes hypérémiées. Rate et foie hypertrophiés.
168. Poumons avec des nodules blancs multiples. Foie hypérémié avec des nodules blancs ponctués. Cult. du *b. pesteux.*
169. Grand bubon de la glande inguinale droite externe (supérieure), autour une infiltration sanguinolent. Poumons avec des hémorragies ponctuées. Rate avec des nodules. Foie grand foncé avec des foyers nécrotiques. Cult. du *b. pesteux.*
170. Rate hypertrophiée avec des nodules blancs. Cult. du *b. pesteux.*
171. Bubon axillaire droit. Cult. du *b. pesteux.*
172. A l'aine gauche un bubon qui s'est ouvert.
173. Poumons hypérémiés: plusieurs nodules blancs pas grands, entourés d'un anneau hémorragique. Cult. du *b. pesteux.*
174. Dans la rate plusieurs tubercules de grandeur d'un point jusqu'à un grain de millet, rate soudée à la paroi abdominale. Cult. du *b. pesteux.*
175. Glandes inguinales fortement hypertrophiées. Rate hypertrophiée, soudée à la paroi abdominale. Cult. du *b. pesteux.*
176. Paquet de glandes cervicales superficielles. Rate hypertrophiée avec des nodules. Sur le foie des nodules isolés. Sur l'épicarde de petites extravasations ponctuées. Cult. du *b. pesteux.*
177. Pas frais. Hypérémie de l'intestin et hémorragie rétropéritoneale. Cult. du *b. pesteux.*
178. Glandes cervicales gauches de grandeur d'une lentille rouges, succulentes. Poumons pléthoriques, lobes inférieurs oedemateux, enflammés. Rate hypertrophiée avec des tubercules isolés.
179. A l'aine gauche glande hémorragique. Nodules isolés dans la rate et le foie. Cult. du *b. pesteux.*
180. Bubon inguinaux, du côté gauche bubon très grand. Cult. du *b. pesteux.*
181. Du côté gauche bubon inguinal. Poumons hypérémiés avec des foyers nécrotiques ponctués. Rate avec des nodules gris de grandeur jusqu'a nn grain de millet. Foie hypertrophié, nodules isolés. Cult. du *b. pesteux.*
182. Bubons inguinaux. Rate un peu hypertrophiée avec des nodules gris. A la paroi intestinale hémorragies ponctuées. Cult. du *b. pesteux.*
183. Du côté gauche bubon inguinal. Rate fortement hypertrophiée. Cult. du *b. pesteux.*
184. Glandes cervicales hypérémiées. Rate en tubercules ponctués. Foie hypertrophié avec des foyers d'hémorragies et de petits nodules abdominaux.
185. Du côté gauche bubons axillaire et inguinal. Cult. du *b. pesteux.*
186. Bubon très grands, du côté droit glande inguinale externe (supérieure), du côté gauche glande inguinale interne (inférieure). Cult. du *b. pesteux.*
187. Rate avec des nodules nécrotiques, de même le foie, sont soudés ensemble et avec la paroi abdominale.
188. Bubon inguinal gauche. Cult. du *b. pesteux.*
189. Bubon cervicaux. Cult. du *b. pesteux.*
190. Glande inguinale droite externe (supérieure) hypertrophiée, autour une infiltration hémorragique. Cult. du *b. pesteux.*
191. Bubons inguinaux du côté gauche et grand bubon axillaire du côté droit. Poumons hypérémiés avec des tubercules nécrotiques ponctués. Rate toute en petits tubercules. Cult. du *b. pesteux.*
192. Glandes inguinales externes (supérieures) hypérémiées. Poumons hypérémiés, au lobes inférieurs des foyers d'extravasations. Rate foncée, de grandeur ordinaire, adhère à la paroi abdominale. Cult. du *b. pesteux.*



Travaux de la Commission pour l'étude de la peste dans le Sud-Est de la Russie.

Rapport du Laboratoire de Djambeita de la province d'Ouralsk [1].

Par **G. Koltzov.**

(Avec 7 figures dans le texte.)

I.

Introduction.

Au mois d'octobre de l'année 1913 dans la province d'Ouralsk a eclaté une épidémie de peste dans la localité Issim-Tubé, à une distance de 7 verstes du bourg de Cosaques Kalmykovskaïa. Cette localité se trouve presque à une distance de 200 verstes de Djambeita et en est séparée par une steppe peu habitée et privée de toute organisation de transport (par des chevaux). L'épidémie de peste qui a éclaté a pris des dimensions considérables tant au point de vue de l'espace qu'au point de vue des victimes, c'est pourquoi on a organisé un deuxième laboratoire bactériologique temporaire à Kalmytsk. Ce laboratoire était attaché au laboratoire de Djambeita; les deux laboratoires se trouvaient sous ma direction, presque toute l'année, les trois mois et demi de l'été exceptés, lorsque le docteur A. Skvortzov et l'étudiante en médecine Boldyrev ont travaillé à Kalmytsk. Le rapport présent contient tout ce qui a été fait au Laboratoire de Kalmytsk, excepté les travaux de Skvortzov et de Boldyrev. Au Laboratoire de Kalmytsk a travaillé encore durant plus d'un mois le médecin vétérinaire J. Choukevitch qui a obtenu des résultats intéressants concernant des maladies des chameaux provoquées par des trypanosomes, trouvés dans le sang de cet animal.

---

1) Pour le temps du 1ier septembre 1913 au 1ier septembre 1914.

II.

Développement de l'épidémie de peste dans la province d'Ouralsk durant l'année 1913—1914.

Le premiers cas de peste parmi les Kirghiz ont été constatés par l'administration dans la deuxième moitié du mois d'octobre 1913 dans la localité Issim-Tubé du canton Kiziljar, de l'arrondissement de Lbistchensk. L'épidémie a commencé subitement. Lorsque les Kirghiz se sont réunis dans cette localité à l'occasion de la fête Kourban-Bairam et des élections de l'administrateur du canton des cas d'une maladie, se terminant vite



Fig. 1. Près des huttes pestiférées incinérées dans la localité Issime-Tubé sont placées 10 à 15 voitures avec des tentes (kibitka).

par la mort, se sont d'éclarés; il y avait quatre cas de mort durant une seule journée. Une panique a gagné les habitants; beaucoup se sont sauvés en fuyant pour éviter le séjour dans la quarantaine, quelques uns se sont évadés de la quarantaine même. Le premier malade, dont l'administration a eu connaissance le 20 octobre, manifestait le symptôme peu favorable de l'hémoptysie. J. Kalinine le médecin de la section, dans laquelle se trouve cette localité, réside à Lbistchensk, à une distance presque de 200 verstes d'Issim-Tubé et n'a vu pas un seul malade jusqu'au 20 octobre; lorsque nous sommes arrivés ensemble à l'endroit de l'épidémie le 1ier novembre 1913, nous n'avons trouvé que des malades atteints de peste pneumonique. Le cadavre du Kirghiz mort le 18 octobre a été exhumé et autopsié; on a diagnostiqué la peste pneumonique. On n'a pas réussi ainsi à constater des cas de peste bubonique. L'épidémie qui

se développait à nos yeux se propageait de l'homme à l'homme par contact et fut importée par les fuyards d'Issim-Tubé dans tous les autres foyers.

Vu le manque de médecins au plus fort de l'épidémie, on n'a pu établir le nombre de cas par jour, on jugeait le développement de l'épidémie sur le nombre de morts, qui atteint le maximum les 9 et 10 novembre et diminue peu à peu dans la suite. Du 1 au 10 décembre il n'y avait ni de nouveaux malades, ni de morts, c'était la période d'accalmie après laquelle à partir du 11 décembre, lorsqu'il y avait un nouveau cas de peste bubonique dans la localité Saga au canton Inder, a commencé une période avec un nombre journalier de cas peu considérable qui a duré jusqu'au 21 mars. Pendant cette période on observait surtout des



Fig. 2. Hutte incinérée dans laquelle est mort par la peste l'infirmier (aide-médecin) Akoulinine dans la localité Issim-Tubé.

cas de peste bubonique, exclusivement au canton Inder; un seul cas encore a été constaté dans la localité Kyzylkoug de l'arrondissement de Gouriève. En observant la marche de l'épidémie du début jusqu'à la fin, nous avons tâché d'élucider quels étaient les facteurs qui ont produit une telle diversité de cas. En effet: à un moment donné dans un certain endroit l'épidémie prenait rapidement la forme pneumonique fortement contagieuse et aigüe, tandis que dans un autre endroit elle ne sortait pas des limites de la forme bubonique et dans le troisième endroit elle avait les deux formes, mais ne portait pas de caractère aussi pernicieux. Tout cela a été observé au cours de la même épidémie, dont l'agent changeait la virulence grâce aux certains facteurs inconnus. En étudiant des foyers de peste où l'infection a été indubitablement importée, nous avons constaté toujours le même mécanisme : le malade atteint de peste pneu-

monique quitte souvent à l'état latent de la maladie le foyer pesteux; il transmet l'infection aux habitants ou aux visiteurs de la hutte qu'il habite; suivant la densité plus ou moins grande de la population de la localité, l'éclosion est plus ou moins considérable; il y avait des cas rares d'infection à ciel ouvert, en dehors des habitations. Parmi les habitants de la localité donnée il y a parfois des personnes qui jouissent d'une immunité naturelle vis à vis de la peste, elles restent vivantes, tandis que les personnes réceptives meurent; le pourcentage de guéris est insignifiant. De cette manière se termine l'épidémie sans donner de récidives. L'éclosion dans la localité Issim-Tubé appartient à ce type d'épidémies importées; on n'a pu seulement trouver le premier cas



Fig. 3. Hutte incinérée dans la localité Baï-Tchourek. A proximité une meule de foin.

importé, c'est pourquoi il est difficile d'indiquer l'endroit de l'apparition de l'épidémie. Le plus suspect est à ce point de vue le canton Inder qui est caractérisé par une longue période à un nombre journalier de cas peu considérable; on n'a pu établir de lien visible entre les dernières éclosions qui ont éclaté après le 10 décembre. Plusieurs éclosions de peste bubonique (Mamaï-Tubé) ont passé inaperçues et plusieurs cas de mort par la peste ont été si peu suspects que le chef de l'arrondissement a permis de les enterrer sans en informer les médecins. Le personnel de la mission de l'Institut a établi le caractère pesteux de ces cas par l'analyse bactériologique des cadavres exhumés (docteur S. Tikhomirov). — Parmi les autres phénomènes ayant une signification épidémiologique par la même mission de l'Institut était signalé une épizootie pesteuse des souris. Sous les meules de foin on constatait des cadavres des souris de champs et des

souris de maison en grande quantité; à côte de vieux cadavres momifiés, on trouvait aussi des cadavres frais. On n'a pas réussi à constater le passage de l'épizootie à l'épidémie et inversement de l'épidémie à l'épizootie. Le fait suivant montre la possibilité de l'apparition de l'épizootie à lu suite de l'épidémie. Nous avons eu l'occasion d'observer que les souris ont dévoré les cadavres des personnes pesteuses, de cette manière elles devaient indubitablement contracter l'infection. Dans le canton Inder des cadavres frais des souris ont été trouvés dans des huttes habitées (m-elle Mindov). Nous sommes persuadé que dans le canton Inder il y a avait deux épizooties parmi les souris: une a précédé l'épidémie, l'autre a accompagné l'épidémie parce qu'on n'a pas pris soin d'enterrer les personnes mortes par la peste. On peut supposer que l'épidémie d'Issim-Tubé a commencé au canton Inder, mais il n'y avait jamais de peste humaine dans ce canton, ni cent verstes autour; en général pendant une année entière on n'a pas observé de peste humaine dans la province d'Ouralsk.

Tableau I.

Répartition des éclosions de peste suivant les années.

Chiffres romains sur la carte №4.	Années.	Commencement de l'épidémie.	Fin de l'épidémie.	Nombre de foyers.	Nombre de malades.
I	1904—5	1 novembre	7 janvier	4	416
	1906	il n'y avait pas			
II	1907	14 septembre	19 septembre	1	11
	1908	il n'y avait pas			
III	1909	20 juin	30 décembre	6	218
IV	1910	6 août	17 août	2	7
V	1911	25 juillet	15 octobre	4	18
VI	1912	8 avril	3 novembre	11	59

Pendant les 8 années que ce tableau embrasse la peste humaine a sévi durant la cinquième partie du temps, le $^4/_5$ qui restent l'infection a du, par conséquent, se conserver en dehors de l'homme.

L'année 1912, qui a précédé l'épidémie qui nous intéresse, est typique sous ce rapport. Durant cette année il y avait 11 éclosions qui ont duré du 8 avril au 3 novembre; il y avait 59 malades. L'automne de cette année on a commencé l'examen des rongeurs dans la province

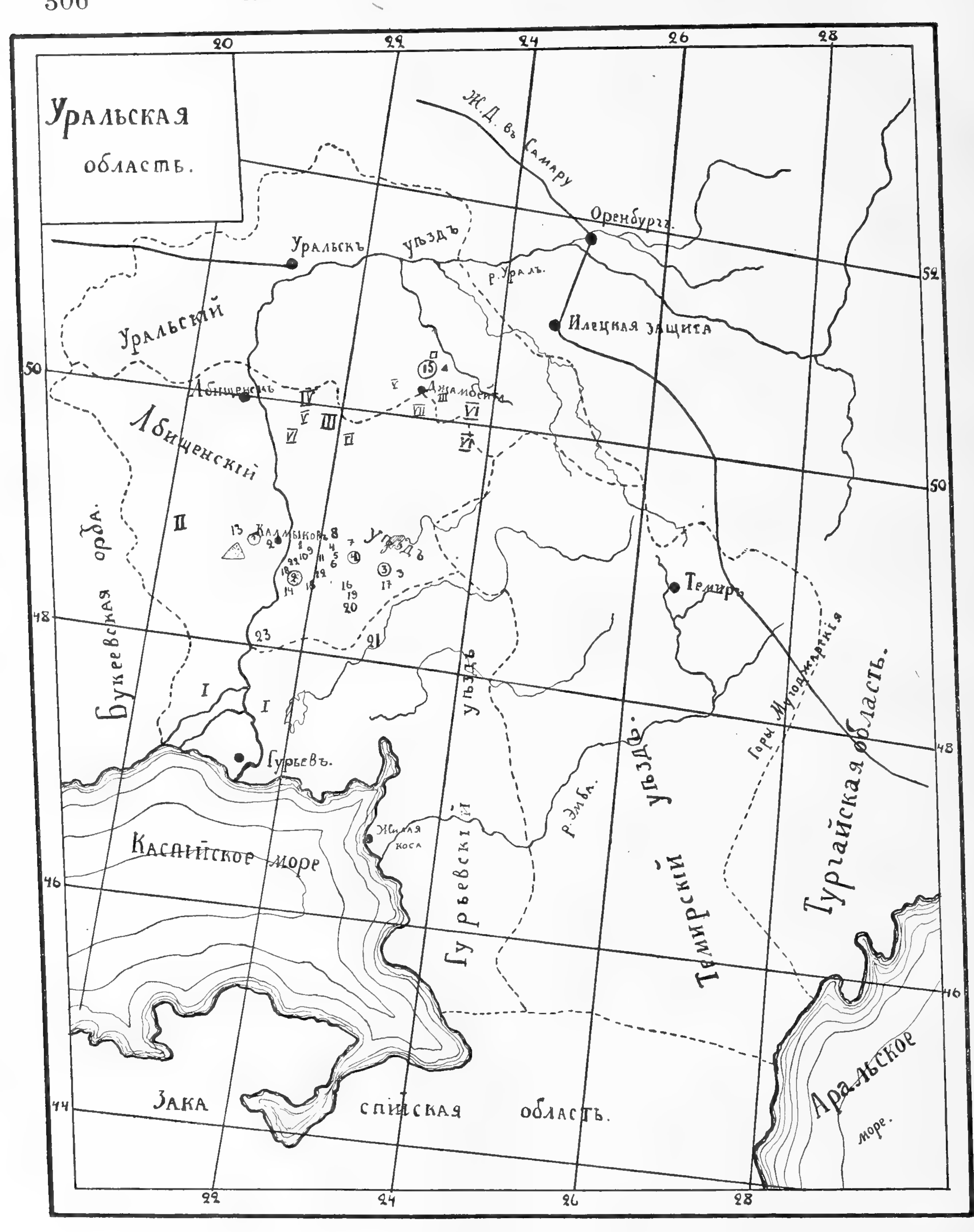


Fig. 4. Carte de la province d'Ouralsk.

Explication des signes:

Les chiffres romains désignent les foyers pesteux suivant les années d'après le tableau I.
Les chiffres arabes désignent les foyers pesteux des années 1913—1914 d'après le tableau II.
Les chiffres arabes dans des cercles sont placés aux endroits où l'on a trouvé des spermophiles pesteux.
▲ gerboise pesteuse □ hamster pesteux.
Un chiffre arabe dans un cercle couvert de hauchures désigne les endroits où l'on a trouvé des souris pesteuses.
△ ce signe indique l'endroit où, d'après le docteur A. Skvortzov, on a observé une épizootie parmi les spermophiles pendant l'été de l'année 1914.

Tableau II.

Données statistiques concernant l'épidémie de peste de 1913—1914.

№	Localité où la peste a sévi.	Canton	Arrondissement.	Quand est tombé malade le premier malade.	Forme de la peste.	Quand le dernier malade est mort.	Nombre de cas.	Nombre de décès.	Nombre de guérisons.
				1913		1913.			
1	Issim Tubé.	Kiziljar.	Lbistchensk.	18 oct.	Pneumonique.	1 déc.	153	152	1
2	Kalmykov (hameau).	Du bourg Kalmykov.		4 nov.		1 déc.	14	14	—
3	Alabas-Koul.	Djaksybaï.		5 nov.		21 déc.	78	77	1
4	Assaoukhoutor.			5 nov.		4 déc.	20	20	—
5	Bes-Koudouk.			5 nov.		28 nov.	9	9	—
6	Djaman-Koudouk.	Kiziljar.		5 nov.		30 nov.	9	9	—
7	Baï-Tchourek.			8 nov.		1 déc.	17	17	—
8	Sarybas-Taou.			8 nov.		1 déc.	30	30	—
9	Kzyloui.			8 nov.		8 nov.	1	1	—
10	Djantakta.			8 nov.		12 nov.	4*)	4	—
11	Djoumarta.			9 nov.		9 nov.	1	1	—
12	Kojebek.	Inder.		9 nov.		25 nov.	9	9	—
13	Soundoukovy-Kolodtsy (hameau).	Du bourg Kalmykov.		12 nov.		25 nov.	5	5	—
14	Djantakta.	Inder.		13 nov.		1 déc.	15	15	—
15	Djané.			13 nov.		13 nov.	1	1	—
16	Touman-Tubé.			19 nov.		5 déc.	33	33	—
17	Tiajekeneva (hameau).	Djaksybaï.		21 nov.		25 nov.	2	2	—
18	Touléké.	Inder.		22 nov.		23 nov.	2	2	—
19	Saga.			11 déc.		15 déc.	2	2	—
				1914.		1914.			
20	Mamaï-Tubé.	Inder.		12 janv.	Bubon.	17 janv.	2	2	—
21	Kizil-Kouga.	Kizil-Kouga.	Gourièvе.	18 janv.	Pneum.	18 janv.	1	1	—
22	Kiziljar.	Kiziljar.	Lbistchensk.	20 janv.	Bubon.	25 janv.	4	4	—
23	Kiziljar.	Inder.		17 févr.	Mixte.	13 mars.	22	22	—
						En tout dans 23 éclosions	434	432	2

*) Un cadavre a été trouvé dans un puits le 25 mars 1914.

d'Ouralsk et le médecin J. Doudtchenko a constaté des cas d'une maladie analogue à la peste chez le hamster (*Cricetus cricetus*).

Pendant l'été 1913 il n'y avait pas d'éclosions de peste humaine, mais il y avait une épizootie parmi les spermophiles, et on a reussi à isoler une culture pesteuse du spermophile roussâtre (*Colobotis rufescens*) des ensemencements faits par Chaternikov. Ensuite a commencé la phase de l'épizootie décrite plus haut parmi les souris qui s'est transformée, à ce qu'il paraît, en une épidémie au canton Inder. Si les faits



Fig. 5. Dans la carte est couvert de hachures l'espace où ont sevi des épidémies de peste à partir de l'année 1904 jusqu'au 21 mars de l'année 1914.

rapportées ne présentent pas de données suffisantes pour la solution du proplème du mécanisme de la transformation de l'épizootie en épidémie, elles montrent d'une manière bien nette que la peste est endémique dans la province d'Ouralsk et qu'elle y existe sous forme d'épizootie parmi les rongeurs, c'est pourquoi tous les efforts de trouver les voies d'importation de l'infection (de l'horde de Boukeiev ou du gouvernement de Samara) sont restes vains.

Les endroits où sévit la peste dans la province d'Ouralsk sont couverts sur la carte des hachures et on voit qu'il y a deux parties: une partie septentrionale et une partie méridionale (fig. 5). Dans la dernière partié la peste a été observée en 1904—1905, 1907 et 1913—1914, il y avait en tout 863 décés par la peste. Cette partie occupe les deux bords du fleuve d'Oural. Dans la partie septentrionale ont sévi toutes les autres épidémies de peste du 1909 au 1912 inclusivement; pendant cette période il y avait 291 décés. Cette partie était localisèe dans la steppe et n'a jamais atteint le fleuve d'Oural. A l'est des montagnes de Mougodjar il n'y avait pas d'éclosions de peste humaine. Il est intéressant détudier le spermophile de Mougodjar sur place dans les montagnes de Mougodjar et de constater s'il n'y a pas de spermophiles pesteux là, où il n'y avait pas d'éclosions de peste humaine, et si le spermophile n'a pas transporté la peste aux bords de l'Oural où il y a des conditions favorables à la tranformation de l'épizootie en épidémie. Ce n'est que la solution négative de cette question qui donnera droit de supposer que la peste a été importée par l'homme et que l'homme a transmis la peste aux spermophiles et aux autres rongeurs qui conservent l'infection pesteuse et la transmettent à l'homme dans des conditions non encore élucidées par la science; de cette manière se crée le cercle épidémiologique de la peste endémique dans la province d'Ouralsk.

III.

Etude des rongeurs.

L'étude ou l'examen des rongeurs se divise à force des conditions naturelles en deux périodes: d'abord ont été examinés les rongeurs non hibernants, les souris et les petits hamsters gris (*cricetulus arenarius*) et ensuite au printemps tous les rongeurs. La classification des rongeurs a présenté les plus grandes difficultés; sous ce rapport le zoologiste K. Satounine nous a rendu un grand service. En tout il a été examiné 16.109 rongeurs. Cet examen des rongeurs pendant l'épidémie a montré que les souris sont les porteurs de l'infection et que l'épizootie parmi les souris a précédé l'épidémie de la peste humaine. En outre, ce n'est que grâce à l'examen des rongeurs au cours de l'année entière que l'on a réussi à établir d'une manière indubitable que la peste est endémique dans la province d'Ouralsk et qu'elle se conserve chez les rongeurs sous forme de cas de peste sporadiques et prend dans certains endroits le caractère d'une épizootie avec une mortalité considérable (souris, spermophiles).

Pour la chasse aux rongeurs et leur transport au laboratoire il y avait une équipe composée d'un instructeur et de deux ouvriers avec un cocher (avec deux chevaux); on attrapait les souris à l'aide de souricières et les autres rongeurs en versant de l'eau dans leurs gîtes: lorsque l'animal se montrait à la sortie du trou, on l'attrappait avec des pinces. On plaçait les animaux vivants dans des cages et les animaux morts

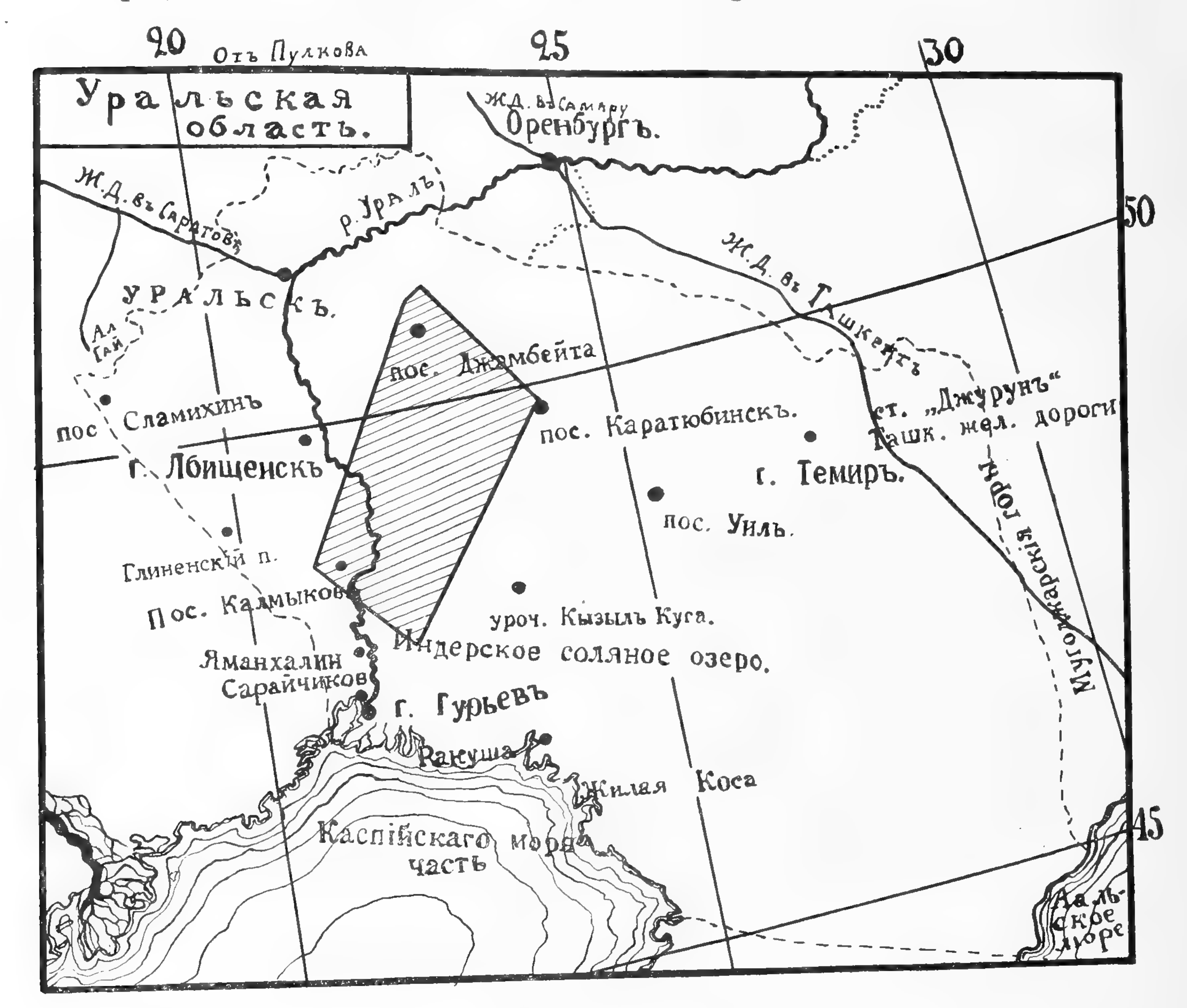


Fig. 6. Sur la carte est couvert de hachures l'espace dont on a examiné les rongeurs pendant les années 1913—1914.

dans des bocaux en fer blanc avec des convercles et des étiquettes indiquant l'endroit où l'on les a attrappés. Nous acceptions, en outre, aussi les rongeurs apportés au laboratoire par la population qui était payée à raison d'une somme déterminée pour chaque animal. Les animaux morts étaient examinés aussitôt apportés, quant aux animaux vivants, on les tuait après l'autopsie des animaux morts par de l'éther ou

du sulfure de carbone et on les examinait ensuite. On gardait une petite quantité de rongeurs vivants pour observer leur vie en captivité.

En ce qui concerne l'examen, on le faisait d'après le plan suivant. Tout rongeur à examiner était considéré suspect au point de vue de la peste, c'est pourquoi on prenait des mesures nécessaires contre la contraction de l'infection par le chercheur. Les parasites de la peau furent recueillis dans des tubes à essai spéciaux avec un mélange d'alcool et de xylol; on plongeait ensuite le cadavre dans du pétrole pour récueillir le parasites de la peau qui n'ont pas été remarqués. On ne le faisait pas avec les cadavres de rongeurs tués par l'éther ou le sulfure de carbone parce qu'on tuait dans ce cas les parasites avec leurs hôtes.

D'après la détermination de K. Satounine les espèces suivantes de rongeurs ont été trouvées dans la province d'Ouralsk.

Souris (Muridae).

1. *Mus musculus* — souris de maison ordinaire.
2. *Lagurus lagurus* — souris de steppe avec une queue très courte, poil de couleur gris brillant avec une raie noire au long de l'épine dorsale.
3. *Microtus socialis* — souris de champs.
4. *Microtus saxatilis* — grande souris de champs.
5. *Microtus amphibius* — souris d'eau.
6. *Mus Wagneri* — souris de steppe, ressemble beaucoup à la souris de maison, mais a un ventre blanc et un dos jaunâtre.
7. *Ellobius talpinus* — souris rouge des endroits sablonneux.
8. *Cricetus cricetus* — hamster ordinaire.
9. *Cricetulus Ewersmanni.*
10. *Cricetulus feus* — ne se distingue du dernier que par cela que le premier a une raie grise dans la région de clavicules et le dernier le cou et le ventre tout blancs; ces deux espèces de hamster sont de grandeur d'une grande souris de champs.

Spermophiles (Sciuridae).

1. Petit spermophile gris *Spermophilus mugozaricus*, ressemble beaucoup au spermophile musicien se rencontrant au bord droit du Volga mais n'a pas pourtant sa voix sonore; il provient des montagnes de Mougodjar situées dans l'arrondissement de Temir dans la direction vers le lac d'Aral; de là le *Sperm. mugozar.* se répand au sud- et nord-ouest.
2. *Spermophilus (Colobotis) rufescens* — grand spermophile roussâtre (trois fois plus grand que le précédent); provient du gouvernement d'Orenbourg et tend à se propager vers le sud- et le nord-ouest.

T a b l

Répartition des rongeurs

Espèce animale.	Novembre 1913.			Décembre 1913.			Janvier 1914.			Février 1914.			Mars 1914.		
	Nombre total.	Nombre d'anim. examin. au p. d. v. bactériol.	Nombre d'anim. pesteux.	Nombre total.	Nombre d'anim. examin. au p. d. v. bactériol.	Nombre d'anim. pesteux.	Nombre total.	Nombre d'anim. examin. au p. d. v. bactériol.	Nombre d'anim. pesteux.	Nombre total.	Nombre d'anim. examin. au p. d. v. bactériol.	Nombre d'anim. pesteux.	Nombre total.	Nombre d'anim. examin. au p. d. v. bactériol.	Nombre d'anim. pesteux.
Mus musculus	—	—	—	120	120	1	97	97	—	103	103	—	30	30	—
Mus Wagneri	2	2	—	28	28	—	59	59	—	70	55	—	41	30	—
Lagurus lagurus . . .	51	51	—	45	45	—	79	60	—	15	15	—	—	—	—
Microtus socialis	2	2	—	20	20	—	73	73	—	115	115	1	15	15	—
Microtus saxatilis . . .	—	—	—	—	—	—	3	3	—	5	5	—	—	—	—
Microtus amphibius . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	2	—	1	1	—
Ellobius talpinus . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Crocidura	—	—	—	1	1	—	2	2	—	2	2	—	—	—	—
Cricetus cricetus	—	—	—	—	—	—	1	1	—	1	1	—	2	2	—
Mesocricetus Ewersmanni	—	—	—	3	3	—	5	5	—	25	25	—	1	1	—
Cricetulus feus	—	—	—	10	10	—	15	15	—	72	72	—	3	3	—
Spermophilus mugozaricus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1230	815	—
Spermophilus rufescens .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	60	60	—
Cynomys fulvus	—	—	—	1	1	—	—	—	—	120	120	—	180	180	—
Alactaga saliens . . .	—	—	—	1	1	—	—	—	—	—	—	—	30	30	—
Alactagula acontion . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	10	10	—
Alactaga elater	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	2	—
Platycercomys platyurus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	11	11	—
Dipus sagitta	—	—	—	—	—	—	2	2	—	—	—	—	—	—	—
Dipus halticus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Putorius Ewersmanni .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1	—
Mustella erminea . . .	—	—	—	—	—	—	2	2	—	—	—	—	—	—	—
Mustella vulgaris . . .	—	—	—	1	1	—	3	3	—	10	10	—	4	4	—
Total	55	55	—	230	230	1	341	341	—	540	525	1	1621	1206	—

e a u III.

examinés suivant les mois.

Avril 1914.			Mai 1914.			Juin 1914.			Juillet 1914.			Août 1914.			Septembre 1914.			En tout durant 11 mois.	
Nombre total.	Nombre d'anim. examin. au p. d. v. bactériol.	Nombre d'anim. pesteux.	Nombre total.	Nombre d'anim. examin. au p. d. v. bactériol.	Nombre d'anim. pesteux.	Nombre total.	Nombre d'anim. examin. au p. d. v. bactériol.	Nombre d'anim. pesteux.	Nombre total.	Nombre d'anim. examin. au p. d. v. bactériol.	Nombre d'anim. pesteux.	Nombre total.	Nombre d'anim. examin. au p. d. v. bactériol.	Nombre d'anim. pesteux.	Nombre total.	Nombre d'anim. examin. au p. d. v. bactériol.	Nombre d'anim. pesteux.	Nombre de rongeurs examinés.	Nombre de rongeurs pesteux.
15	15	—	8	8	—	1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	374	1
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	200	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	190	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	225	1
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	8	—
1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	—
1	1	—	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5	—
25	25	—	180	180	—	241	241	—	207	207	—	70	70	1	30	30	—	757	1
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	38	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	100	—
1830	1600	—	2230	2000	—	2550	2240	5	3167	3000	41	650	630	6	150	150	—	11807	52
175	115	—	420	420	—	120	120	—	107	107	—	30	30	—	—	—	—	912	—
60	60	—	37	37	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	398	—
50	50	—	60	60	—	40	40	—	35	35	—	15	15	—	8	8	—	239	—
10	10	—	30	30	—	40	40	—	10	10	—	—	—	—	—	—	—	100	—
25	25	—	108	108	—	60	60	—	31	31	—	70	70	1	17	17	—	313	1
80	80	—	91	91	—	85	85	—	80	80	—	40	40	—	20	20	—	407	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—
—	—	—	1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—
—	—	—	1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	—
2	2	—	1	1	—	1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	22	—
2274	1984	—	3169	2938	—	3139	2828	5	3637	3470	41	875	855	8	225	225	—	16109	56

3. *Cynomus (spermophilus) fulvus* — spermophile noirâtre ou petit chien de prairies; ses cris ressemblent à l'aboiement d'un petit chien. Provient, probablement, de la province Transcaspienne où on l'appelle *karabyche;* tend à ce propager vers l'ouest; fait l'objet de la chasse à cause de sa peau. Tous les spermophiles ont déjà passé le fleuve d'Oural.

Gerboises (Dipodidae).

1. *Alactaga saliens* — grande gerboise.
2. *Alactaga elater* — petite gerboise.
3. *Alactagula acantion* — ressemble au précédent, mais a plus de dents.
4. *Platycercomus platyurus* — n'a pas de signes blancs et est de taille un peu plus petite que les deux espèces précédentes.
5. *Dipus (jaculus) halticus* — taille moyenne (entre le petit et le grand), aux extremités de ces pattes a des pinceaux de poil et 3 doigts à chaque patte, tandis que les trois espèces précédentes ont 5 doigts à chaque patte.
6. *Dipus sagitta* — (atjolman-poulia en langue de Kirghiz) ressemble beaucoup au rat, mais possède un ventre blanc et des pattes postérieures plus longues.

Sorcidae.

Crocidura. Ressemble à la souris, avec un museau allongé, se rencontre dans des habitations et près des habitations.

Parmi les rongeurs rapaces ont été examinés: *Putorius Ewersmanni* (putois de steppe); *Putorius (Mustella) ermineus* (hermine) et *Mustella vulgaris* ou *Putorius nivalis* (bellette).

Parmi les spermophiles *(Sperm. mugozaricus)* on trouve des animaux à poil presque blanc (albinos). L'équipe ayant ramassé tous les rongeurs qui se rencontraient dans la steppe, le tableau III indique quels rongeurs et à quelle saison se rencontrent le plus souvent dans la steppe.

Pour calculer le nombre de rongeurs pesteux sur le nombre général des rongeurs examinés, il faut avoir en vue que parmi les animaux apportés au laboratoire il n'y avait que 26 atteints de peste, les autres ont contracté l'infection en captivité, car dans une cage pour les spermophiles s'est développée une épizootie dont nous parlerons plus loin.

Parmi plus de mille souris examinées nous n'avons constaté que deux pesteuses et sur le même nombre de hamsters et de gerboises un animal de chaque espéce atteint de peste. En ce qui concerne les spermophiles, on en apporté 22 atteints de peste; le premier cas a été constaté grâce à la culture que l'on a isolée de l'animal et que l'on a injectée à un cobaye; ce spermophile a été apporté vivant de l'ancien foyer

pesteux Baïtchourek, du canton Kiziljar de l'arrondissement de Lbistchensk. Jusqu'à ce moment nous avons examiné plus de cinq mille spermophiles et n'avons constaté pas vu seul pesteux. Le dernier

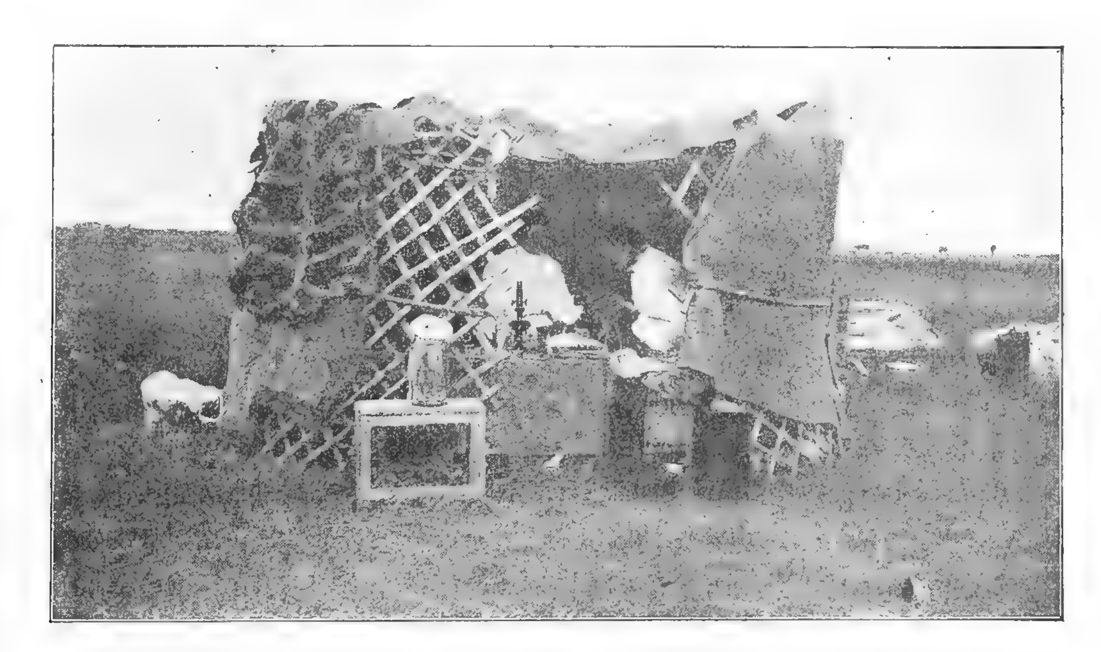


Fig. 7. Cabane improvisée (djalameika) construite pour l'examen des spermophiles à Kara-Tubé.

spermophile atteint de peste a été attrappé le 2 août près des potagers russes pour la culture des melons et des concombres (baktcha) dans le canton de Djambeita, de l'arrondissement d'Ouralsk.

IV.

La peste parmi les rongeurs.

L'examen des rongeurs se faisait en même temps au point de vue anatomique pathologique, qu'au point de vue bactérioscopique et bactériologique. On faisait de chaque animal des frottis du sang, de la rate et du foie, et on ensemençait la gélose avec les mêmes tissus. Cette étude a donné le résultat suivant: malgré l'absence de signes anatomiques pathologiques, on trouvent le bacille pesteux sur les frottis et on obtenait aussi des cultures du b. pesteux dans les tubes à essais; nous avons observé ce phénomène aussi chez une souris; chez six spermophiles examinés il n'y avait pas non seulement de signes anatomiques pathologiques, mais les bâtonnets à coloration bipolaire ont été tellement rares que l'on ne pouvait pas les constater; on a obtenu néanmoins des cultures (v. procés-verbaux №№ 23, 44, 45, 47, 51, 53). En ce qui con-

cerne les signes anatomiques pathologiques, nous avons observé chez 12 rongeurs approximativement l'ensemble complet de symptômes: bubons, glandes hypertrophiées et hypérémiées, foie piqueté, rate hypertrophiée, hypérémiée et piquetée, hemorragies (v. procés-verbaux №№ 5, 12, 15, 19, 25, 27, 30, 32, 38, 46, 52, 55). Ce n'est que dans six cas que nous n'avons pas observé de glandes hypertrophiées; dans tous les autres cas l'hypertrophie des glandes sautait aux yeux.

Absence complète des bubons: 47 cas, c. a. d. 84 %.

En présence des bubons, des bubons multiples constituent 6 %, dans les autres cas il y avait des bubons isolés. En ce qui concerne leur distribution sur le corps des rongeurs, les bubons se répartissent de la manière suivante:

Bubons fémoraux: 1; subaxillaires: 1; rétropéritonéales: 1; cervicaux: 1; sous-maxillaires: 2; inguinaux: 2; en tout 9, c. a. d. 16 %.

Changements dans la rate (rate hypertrophiée, hypérémiée avec ou sans nécroses): 31 fois, c. a. d. 55 %.

Changements dans le foie (avec des nécroses, une dégenérescence graisseuse et une hypérémie): 30 fois, c. a. d. 55 %.

Changements aux poumons (hypérémie, hémorragies, nécroses, foyers pneumoniques): 4 fois, c. a. d. 6 %.

Hémorragies à la muqueuse intestinale, au péritoine, aux organes sexuels: 12 fois, c. a. d. 20 %.

A l'examen microscopique des frottis nous avons eu l'occasion de n'observer que des bâtonnets bipolaires typiques; nous n'avons pu constater pas une seule fois la présence des formes sphériques.

Les examens bactérioscopiques ont donné aussi des résultats différents: tantôt on rencontrait les bactéries sur tous les frottis, tantôt on ne les trouvait pas sur les frottis du sang, mais seulement sur les frottis des organes, tantôt, enfin, on ne les trouvait que dans un seul organe. Pour le diagnostic bactériologique on se guidait sur les cultures pures obtenues du rongeur en question lui-même ou d'un cobaye infecté.

Pour infecter les cobayes on frictionnait la peau rasée du ventre avec le tissu à essayer; les cobayes succombaient sans faute 6 à 8 jours après, en présentant tous les symptômes de la peste. Seulement à l'infection avec le tissu prélévé à une gerboise, un cobaye a succombé le onzième jour; il y avait des symptômes de la peste bien prononcés.

Il n'a pas été possible dans nos conditions de travail de vérifier toutes les cultures par l'agglutination; n'ont été vérifiées que les cultures de deux souris, de deux premiers spermophiles, de la gerboise et du hamster.

V.

La marche et l'issue de la peste spontamée chez les rongeurs.

Outre des rongeurs pesteux, nous avons rencontré aussi des rongeurs, chez lesquels en présence des nodules à la rate et au foie et d'une hypertrophie de certaines glandes lymphatiques (cervicales et mesentériques, le plus souvent) il n'y avait pas de bâtonnets sur les frottis et qui ne donnaient pas de cultures et ne tuaient pas les cobayes. Nous les avons appelés similipesteux, mais l'étude ultérieure a permis de trouver dans ces cas des signes de la peste. Il est possible que ce sont des rongeurs qui guérissent après avoir contracté l'infection pesteuse. Il nous a été possible de confirmer aussi par voie expérimentale que la peste n'est pas aussi dangereuse pour les spermophiles que pour l'homme. Une partie de spermophiles guérit.

Une maladie provoquée par l'infection avec un trypanosome du type Lewisii influence la marche de l'infection pesteuse, mais les recherches expérimentales concernant ce problème ne sont pas encore terminées. Un rapport détaillé sur la différence entre les cas pesteux et similipesteux sera fait par S. Damberg. De 54 spermophiles pesteux 22 ont été attrapés malades, les 32 autres sont tombés malades en captivité: on les a placés en quantité de 3 à 4 mille dans une très grande cage en bois [1]), dans laquelle on mettait les spermophiles à mesure qu'on les attrappait; dés qu'on a constaté des cas de peste parmi les spermophiles apportés, aussitôt des cas de peste se sont déclarés parmi les rongeurs dans la cage; l'épizootie parmi les spermophiles en captivité est ainsi une épizootie importée. Les spermophiles contractent l'infection en dévorant des spermophiles morts par la peste ou même des spermophiles mourants, bien qu'ils aient eu toujours en abondance d'herbe et de millet. Les spermophiles à demi morts mangés par les autres ont été examinés et ont été trouvés atteints de peste (procès-verbaux №№ 8, 21, 29). Il y avait aussi, il n'y a pas à s'en douter, de spermophiles atteints d'autres maladies, parmi lesquels aussi des animaux infectés avec des trypanosomes et des piroplasmes. L'épizootié de peste qui s'est développée en captivité nous a permis d'observer le tableau clinique des spermophiles atteints de peste; les animaux malades avaient soif, ils se trouvaient toujours près du vase avec de l'eau et mouraient parfois penchès au dessus du bord du vase vers l'eau;

1) Les cages en bois à grillage en fils de fer n'ont été couvertes de feuilles de fer que de l'extérieur pour donner la possibilité aux spermophiles de ronger les parois de bois de la cage. Si l'on couvre la cage à l'intérieur de fer, les spermophiles n'ont plus la possibilité de ronger quelque chose; c'est pourquoi les dents incisives se développent trop chez eux, ils ne peuvent plus prendre de nourriture et meurent.

l'attitude du spermophile malade rappelle un crochet formée par l'échine dorsale; cette attitude est caractéristique de tous les spermophiles malades. Si l'on met en liberté un spermophile malade, il ne se sauve pas, mais fait des mouvements non coordonnés, comme étant ivre.

L'épizootie a duré trois semaines, durant lesquelles tous les spermophiles ont succombé. L'épizootie ne s'est pas développée parmi les spermophiles qui se trouvèrent dans les autres cages, les animaux de laboratoire non plus (cobayes, rats, souris) n'ont pas contracté l'infection. Après la désinfection des cages vides avec du lysol, on y ramassait les punaises, que l'on envoyait avec les puces à M. le professeur J. Wagner qui a bien voulu prendre le travail de leur détermination. On n'a pas réussi à infecter un cobaye en frictionnant le ventre rasé avec le contenu de 5 punaises. Nous n'avons pas fait d'autres expériences avec des punaises.

VI.

Les parasites de la peau des rongeurs.

A la peau des rongeurs nous avons recueilli des tiques, des poux et des punaises. Nous avons envoyé tous ces parasites à M. J. Wagner; ils ne peuvent faire l'objet d'une étude scientifique qu'après leur détermination. En ce qui concerne les observations empiriques, il s'est montré que la puce jaune du spermophile, de la gerboise et du hamster ne peut pas en mordant percer la peau de l'homme. Nous n'avons pu constater si elle passe d'un hôte à un autre, car il nous a été impossible de distinguer toutes ces puces. La puce noire de l'homme *(Pulex irritans)* a été attrapée une fois sur un spermophile et plusieurs fois dans des nids des spermophiles. Nous avons aussi observé sur le spermophile la puce brune de la souris; ces puces se posent, à ce qu'il paraît, volontiers sur l'homme; lorsqu'on ramasse les puces qui se trouvent sur un spermophile, elles sautent sur les mains de celui qui ramasse, tandis que les puces jaunes tentent à sauter sur les objets qui les entourent ou à se cacher dans l'herbe ou dans le sable.

VII.

Observations sur la vie des rongeurs dans la nature libre.

Ces observations ont trait à la vie et à la multiplication des rongeurs. Les spermophiles s'éveillent après le sommeil d'hiver entre le 20 février et le 20 mars au commencement du printemps. *Cynomus ful-*

vus quitte le premier son gîte; un peu plus tard ou en même temps sort *Spermophil. mugozaricus; Colobotis rufescens* sort le dernier. Toutes les espèces citées de spermophiles dans la province d'Ouralsk ne se multiplient qu'au printemps et une seule fois en mettant bas 8 à 12 petits. Après le 25 avril nous n'avons plus rencontré de femelles pleines, mais du femelles qui allaitent leurs petits. Aprés le 15 juillet il n'y avait plus de femelles allaitant leurs petits; ceux-ci se sont séparés, à ce qu'il paraît, de leurs mères. Depuis ce temps on commençait à rencontrer des spermophiles pesteux. Vers la fin du mois d'août, en dépit du temps chaud, le spermophile a commencé à se cacher pour l'hiver; *Colobotis rufescens* s'est caché le premier. *Spermophilus mugozaricus*, au cas où il fait beau temps, se promène jusqu'au septembre. Le hamster *Cricetus cricetus* se multiplie deux fois par an, au commencement du printemps et au milieu de l'été, en mettant bas en une seule fois jusqu'à 23 petits. Ces hamsters se cachent pour le sommeil d'hiver très tard et restent aux champs jusqu'a l'apparition des froids, ils s'éveillent très tôt. Toutes les gerboises se multiplient 2 fois par an, en mettant bas chaque fois 3 petits. Elles s'éveillent après tous les rongeurs et se cachent pour le sommeil d'hiver presqu'en même temps que les hamsters. Dans un hiver doux nous avons observé des hamsters, des gerboises et *Cynomus fulvus* courant dans la steppe même au mois de décembre. Nous n'avons pas observé toutes les races des souris. *Mus musculus* se rencontre dans les habitations de l'homme et à proximité sous des meules de foin; cette souris se multiplie 2 à 3 et même 4 fois par an dans des conditions favorables, en mettant bas chaque fois 6 à 8 petits; elle aime à manger de la viande et est aussi prête à profiter des cadavres de l'homme; elle ne se cache pas pour l'hiver. *Microtus socialis* et *Microtus saxatilis* ne se distinguent que par la taille; les paysans et les cosaques les appellent souris de champs se cachant dans des trous („mychki-norouchki") et les Kirghiz konortchkan. L'été elles passent dans la steppe loin de l'homme; pour l'hiver elles se raprochent de l'habitation de l'homme et se mettent avec la souris précédente sous des meules de foin. En captivité elles mangent les cadavres de leurs camarades et se jettent même sur les camarades faibles. Elles se multiplient deux fois par an, en mettant bas chaque fois 5 à 6 petits. On trouvait des cadavres de *Lagurus lagurus* et de *Mus Wagneri* sous des meules de foin avec les cadavres des souris précédentes, mais nous n'avons pas eu l'occasion de les observer.

VIII.

Les animaux ennemis des rongeurs qui les dévorent.

Parmi les quadripèdes sauvages qui dévorent les rongeurs nous avons examiné des putois, des belettes et des hermines; parmi ces animaux, dont le nombre n'est pas grand d'ailleurs, il n'y avait pas d'animaux pesteux; nous avons eu l'occasion d'observer un nombre beaucoup plus grand d'oiseaux qui dévorent les rongeurs. Les gerboises de nuit sont dévores surtout par différentes espèces de hiboux et les putois, les spermophiles et les souris par les aigles, les vautours et les milans. Ces quadripèdes et oiseaux ennemis des rongeurs peuvent jouer un rôle plus grand en qualité de propagateurs de l'épizootie parmi les rongeurs, qu'en qualité de transmetteurs de l'infection en la transportant du rongeur à l'homme; il faut cependant faire remarquer que les chasseurs peuvent contracter l'infection en enlevant la peau des putois ou des hermines. Dans ses voyages dans la steppe, l'infirmière Sokolov a réussi à enlever un spermophile à une buse, et ce spermophile s'est montré atteint d'une maladie ressemblant à la peste. De tels spermophiles peuvent être emportés par des oiseaux à des très grandes distances et jouer le rôle de propagateurs de l'épizootie parmi les rongeurs. Un rôle épidémiologique plus grand peuvent jouer les animaux domestiques-ennemis des rongeurs (chats, chiens) qui apportent la proie à leurs petits se trouvant à proximité de l'habitation ou à l'habitation même de l'homme. Ici ils peuvent souiller l'habitation avec le sang du rongeur et semer ainsi l'infection. Si le rongeur attrappé est dévoré loin de l'habitation, les chats et les chiens peuvent apporter dans leur poil des gouttes de sang ou des puces du rongeur atteint de peste et infecter ainsi l'homme. Nous n'avons par réussi à observer des faits qui pourraient confirmer ces suppositions.

IX.

Les parasites du sang des rongeurs.

Des parasites, qui n'ont pas encore été décrits chez le spermophile, nous avons ou l'occasion d'observer le piroplasme *(Babesia)*[1]. S. Damberg a constaté, la première, ce parasite. Le parasite nage librement

1) Un parasite pareil a été observé chez des chiens et des hérissons (v. Traité de Prowaczek).

dans le sang du spermophile *(Sperm. mugozaric.)* ou se trouve dans les érythrocytes, un globule contenant on ou deux parasites.

Les parasites sont de forme lancéolée; se trouvant à deux dans un globule ils se rapprochent par leurs bouts pointus, mais non pas entièrement, comme nous l'observons chez *Pyrosoma bigeminum.* Dans la localité Alabaskoul du canton Djaksybaï où les spermophiles vivent aux bords d'un grand lac marécageux, une épizootie provoquée par ce parasite du sang a été observée. Dans d'autres endroits nous n'avons pas observé ce piroplasme chez le spermophile dans des conditions naturelles. En injectant sous les peau ou dans le péritoine d'un spermophile sain *(Sperm. mugozaricus)* du sang d'un spermophile malade on peut provoquer facilement la maladie; on trouve dans le sang du spermophile infecté le même parasite. Nous n'avons pas réussi, durant le court intervalle de temps que nous avons eu à notre disposition, à obtenir une culture pure ou à infecter un animal de laboratoire (cobaye, lapin, rat, souris). Nous n'avons fait attention aux autres parasites du sang des rongeurs (trypanosomes, Haemagregarina, Grahamia) qu'en tant qu'ils ont une influence sur la marche et l'issue de la peste chez les rongeurs. Ces travaux ont été faites en ce qui concerne les parasites du sang de toutes les espèces de gerboises en collaboration avec l'étudiante en médecin M. Sazonov, en ce qui concerne les parasites du sang des spermophiles et des hamsters en collaboration avec l'infirmiere (aide-médecin) M. Sokolov et seront publiés ultérieurement. S. Damberg a vérifié par voie expérimentale l'influence des parasites du sang sur l'infection avec la peste; les résultats de ces expériences seront exposés dans un travail spécial. Nous voulons pourtant donner ici les conclusions les plus importantes de ces travaux.

1) Un tiers approximativement de toutes les espèces de spermophiles est infecté avec des trypanosomes; dans les sang du rongeur *Cynomys fulvus* le trypanosome est particuliérement grand.

2) Plus de la moitié des hamsters *(Cricetus cricetus)* sont infectés avec des tripanosomes.

3) Dans le sang de la gerboise *(Alactaga saliens)* le trypanosome se rencontre dans un nombre qui ne dépassent pas $1^0/_0$; chez les autres espèces de gerboises on n'observe pas de trypanosomes dans le sang.

4) $20^0/_0$ de souris de champs *(Microtus socialis)* observées ont été trouvées infectées avec des trypanosomes.

5) On réussissait à infecter artificiellement avec le trypanosome le spermophile de la même espèce, le spermophile roussâtre et le hamster. A leur tour, les trypanosomes du hamster et du spermophile roussâtre passent facilement sur tous les rongeurs cités et sur la rongeur de la même espèce.

6) On n'a pas réussi à infecter artificiellement avec des trypanosomes la gerboise, la souris de champs et le rongeur *Cynomys fulvus.*

7) Quant aux autres parasites du sang, on observe chez toutes les espèces de gerboises, l'*Haemogregarina* du type de Balfur et le *Grahamia,* que l'on observe aussi chez le hamster; l'infection mixte se rencontre aussi. Les essais d'infecter avec ces parasites des animaux de la même espèce on un autre animal sauvage n'ont pas réussi.

8) On n'a pas réussi à infecter avec ces parasites *(Trypanosome, Haemogregarina, Grahamia)* le cobaye, le lapin, la souris et le rat.

9) Le problème concernant l'influence des trypanosomes sur l'infection pesteuse et inversement n'est pas encore suffisamment étudié par voie expérimentale. A l'infection avec la peste le trypanosome du spermophile disparaît tout à fait, en faisait aussi disparaître le bacille pestéux du sang, ou se concentre exclusivement dans le bubon pesteux; dans ce cas on a constaté des bacilles pesteux dans le sang. Le spermophiles ont été infectés avec des cultures de la peste humaine, obtenues au cours de l'épidémie, et non pas avec des cultures isolées du spermophile.

10) En infectant un spermophile sain avec des cultures pesteuses, obtenues de l'homme, on réussissait à provoquer des nodules à la rate comme on l'observe à la peste spontannée du spermophile.

X.

Exploration des anciens foyers pesteux des années 1913—1914.

La mission de Djambeita a assumé, d'accord avec A. Skvortzov, la tâche d'explorer les foyers situées plus près de Djambeita; ont été explorés ainsi Alabaskoul, Sarybastaou et Baïtchourek.

La localité Alabaskoul du canton Djambeita a été explorée par S. Damberg et l'étudiante en médecine M. Sazonov et visitée deux fois: au mois d'avril et au mois de juin. Des spermophiles pesteux n'ont eté constatés qu'au mois de juin, la piroplasmose a été constatée principalement au mois d'avril et un peu au mois de juin. Au mois d'avril on pouvait trouver encore près du foyer des habitations des Kirghiz, mais au mois de juin tous les Kirghiz ont quitté cet endroit épouvantable. Sur les tombes pesteuses il y avait en grande quantité des trous des spermophiles, pour la plupart inhabités et très profonds; un trou creusé tout près de la tombe a été dirigé aux cadavres. Il y avait un spermophile qui a été trouvé infecté avec des trypanosomes. A Alabaskoul on trouve exclusivement le *Spermophilus mugozaricus,* on n'a trouvé aucune autre espèce. Dans

les huttes incinérées on n'a pas trouvé de parasites, mais dans les gîtes fouillés des spermophiles il y avait des parasites en abondance, ces parasites ont été envoyés à M. le Prof. J. Wagner qui a pris le soin de les déterminer. L'exploration de Sarybastaou et de Baïtchourek a été faite par l'infirmière Sokolov et a montré que les tombes n'ont pas une telle quantité de trous de spermophiles qu'à Alabaskoul, mais il y avait pourtant dans chaque tombe pesteuse un trou. Des spermophiles pesteux n'ont été trouvés qu'à Baïtchourek. Dans les huttes des personnes mortes par la peste on a placé des cobayes dans des cages. Il s'est montré que dans les huttes incinérées on n'a pas réussi à trouver des parasites; au contraire, dans une hutte désinfectée on a attrapé des puces noires et rousses (ou brunes, je ne peut pas établir), qui ont été envoyées à M. J. Wagner. Dans les nid des trous des spermophiles près des habitations il a été constaté une grande quantite de puces, de cloportes etc.

J'ai exploré personnellement le plus grand foyer: la localité Issim-Tubé. Vers le milieu du mois de mai les huttes desinfectées, mais non incinérées ont été encore habitées. Les habitants rôdaient tranquillement entre les huttes incinérées et se sentaient maîtres de tout ce qui est resté après les personnes mortes par la peste. Près des huttes incinérées il y avait 10 à 15 voitures à tentes (kibitka) où se trouvaient les parents et les membres restés par hasard vivants des familles éteintes à la suite de la peste; j'ai eu l'occasion de causer avec ces orphelins de père et de mère.

En parlant de l'épidémie, ils étaient très affigés et se plaignaient qu'on les a ruinés, en détruisant les habitations et leur bien. Pendant la foire à Kalmykov on a fait un atterage pour le radeau près des huttes incinérées. Les Kirghiz y venaient pour accomplir leurs besoins naturels ou pour chercher un abri pendant les chaleurs en attendant le radeau. Ici ils apaisaient le soif et la faim et se reposaient. On voit ainsi que les Kirghiz ne craignent pas tant les endroits pesteux que le dit l'administration en décrivant la vie et les moeurs des Kirghiz. Les Cosaques évitaient de s'approcher des huttes de la localité Issim-Tubé en passant vite par la voie étroite entre les huttes incinérées. Malgré le fait que durant la foire des milliers de Kirghiz se trouvaient en contact avec l'ancien foyer pesteux et qu'ils se servaient et des briques du foin qui y est resté pas une personne n'a contracté l'infection. On doit ainsi conclure que l'infection pesteuse qui reste sur des objets morts périt et ne peut pas servir de source à une nouvelle épidémie.

Procés-verbaux des examens des rongeurs pesteux.

1. 30/XI 1913. Touléké, canton Inder. *Mus musculus.* Glande inguinale gauche hypertrophiée, glande subaxillaire gauche hypertrophiée, hypérémiée; rate hypertrophiée pleine de petits nodules, dans les poumons hémorragies ponctuées. Sur les frottis de la glande subaxillaire beaucoup de *bacilles pesteux.*
2. 10/II 1914. *Microtus socialis.* Canton Inder. Glandes inguinales un peu hypertrophiées. Sur les frottis de rares *bâtonnets pesteux.*
3. Baïtchourek. *Spermophilus mugozaricus.* Glandes sous-maxillaires hypertrophiées. Sur les frottis de très rares *b. pesteux.*
4. 25/VI. 25 verstes (kilomètres) de Djambeita, près du foyer pesteux de l'année 1912. *Spermophilus mugozaricus.* Glandes sous-maxillaires et cervicales hypertrophiées et hypérémiées. Des nodules à la rate. Sur les frottis partout beaucoup de *b. pesteux.*
5. *Spermophilus mugozaricus.* Glande sous-maxillaire hypertrophiée; rate hypertrophiée, hypérémiée, parsemée de nodules. Hémorragies et ulcères à la séreuse de l'intestin. Sur les frottis partout beaucoup de *b. pesteux.*
6. *Sp. mugozar.* Dans le foie beaucoup de nodules. Sur les frottis beaucoup de *b. pesteux.*
7. *Sp. mugozar.* Glandes subaxillaires hypertrophiées, nodules dans le foie et la rate hypertrophiée et hypérémiée. Sur les frottis partout beaucoup de *b. pesteux.*
8. *Sp. mugozar.* Glandes sous-maxillaires hypertrophiée. Hémorragie dans l'intestin. Sur les frottis beaucoup de *b. pesteux.*
9. *Sp. mugozar.* Glandes subaxillaires hypertrophiées. Des nodules dans le foie et la rate. Sur les frottis beaucoup de *b. pesteux.*
10. *Sp. mugozar.* Glandes cervicales et subaxillaires hypertrophiées. Des nodules dans le foie et la rate. Hémorragies dans les poumons et la séreuse de l'intestin. Sur les frottis partout beaucoup de *b. pesteux.*
11. *Sp. mugozar.* Nodules dans le foie. Glandes mésentériques hypertrophiées. Dans la moelle osseuse beaucoup de *b. pesteux.*
12. 2/VII 1914. Baïtchourek, canton Kiziljar. Glandes sous-maxillaires hypertrophiées. Dans les glandes bronchiales des hémorragies ponctuées. Poumon droit tout couvert d'hémorragies, le lobe inférieur du poumon gauche ne laisse pas passer l'air, ce poumon adhère à la paroi costale. Sur les frottis partout beaucoup de *b. pesteux.*
13. *Sp. mugozar.* Glandes cervicales et subaxillaires hypertrophiées. Des nodules dans la rate. Sur les frottis partout beaucoup de *b. pesteux.*
14. *Sp. mugozar.* Bnbon inguinal bilatéral. Sur les frottis des bubons des bâtonnets en grande quantité.
15. *Sp. mugozar.* Glandes cervicales et sous-maxillaires hypertrophiées. La muqueuse de l'estomac et de l'intestin parsemée d'hémorragies ponctuées. Sur les frottis partout beaucoup de bâtonnets.
16. *Sp. mugozar.* Poumon droit parsemé d'hémorragies de la plèvre, poumon gauche adhère à la paroi costale, les deux lobes ne laissent pas passer l'air. Sur les frottis partout beaucoup de bâtonnets.
17. 6/VII. 25 kilomètres de Djambeita. *Sp. mugozar.* Sur les frottis très peu de bâtonnets.
18. *Sp. mugozar.* Glandes subaxillaires hypertrophiées, foie avec des nodules. Sur les frottis beaucoup de bâtonnets.
19. *Sp. mugozar.* Glandes sous-maxillaires et cervicales hypertrophiées. Séreuse de l'intestin parsemée d'hémorragies ponctuées. Sur les frottis partout beaucoup de bâtonnets.

20. *Sp. mugozar.* Glandes sous-maxillaires, cervicales et mésentériques hypertrophiées. Foie jaune. Dans la rate hypérémie et deux nodules. Dans la moelle osseuse beaucoup de bâtonnets.
21. *Sp. mugozar.* Glandes sous-maxillaires et cervicales hypertrophiées. Sur la séreuse de l'intestin des hémorragies. Sur les frottis des bâtonnets très rares.
22. *Sp. mugozar.* Glandes sous-maxillaires, cervicales et mesenteriques hypertrophiées. Sur les frottis des bâtonnets très rares.
23. 18/VII. Canton Djambeita. *Sp. mugozar.* On n'a pas constaté de bâtonnets sur les frottis. On a infecté un cobaye en frictionnant la peau rasée du ventre avec des cultures; le cobaye a succombé au 5ième jour.
24. *Sp. mugozar.* Bubon fémoral typique de deux côtés.
25. *Sp. mugozar.* Glandes cervicales, mesentériques et sous-maxillaires hypertrophiées. Hémorragies dans la plèvre. Séreuse de l'intestin avec des ulcéres et couverte d'hémorragies. Sur les frottis partout beaucoup de bâtonnets.
26. *Sp. mugozar.* Dans le foie un nodule. Rate hypéremiée avec un nodule. Sur les frottis très peu de bâtonnets.
27 *Sp. mugozar.* Glandes subaxillaires hypertrophiées. Sur les frotis des bâtonnets très rares.
28. *Sp. mugozar.* Glandes mesentériques hypertrophiées. Dans le sang les bâtonnets se rencontrent très rarement.
29. *Sp. mugozar.* Un petit nodule dans le foie. Sur les frottis des bâtonnèts très rares.
30. *Sp. mugozar.* Bubon subaxillaire typique du côté droit. Dans le bubon beaucoup de bâtonnets.
31. *Sp. mugozar.* Bubons inguinaux très grands. Dans les bubons beaucoup de bâtonnets.
32. *Sp. mugozar.* Glandes sous-maxillaires et subaxillaires hypertrophiées. Sur la plèvre et l'épicarde des hémorragies ponctuées. Rate hypérémiée avec des nodules. Séreuse de l'intestin parsemée d'hémorragies. Sur les frottis partout beaucoup de bâtonnets.
33. *Sp. mugozar.* Bubons inguinaux rappellant des testicules. Grand bubon cervical. Sur les frottis partout beaucoup de bâtonnets.
34. *Sp. mugozar.* Grand bubon sous-maxillaire typique. Muqueuse de l'estomac et de l'intestin couverte d'hémorragies ponctuées. Sur les frottis partout beaucoup de bâtonnets.
35. *Sp. mugozar.* Glandes sous-maxillaires hypertrophiées. Sur les frottis partout beaucoup de bâtonnets.
36. *Sp. mugozar.* Glandes mesentériques hypertrophiées. Sur les frottis très peu de bâtonnets.
37. *Sp. mugozar.* On a infecté un cobaye en frictionnant la peau rasée du ventre avec des cultures; le cobaye a succombé 7 jours après.
38. *Sp. mugozar.* Un très grand bubon sous-maxillaire avec des noeuds nécrotiques à la section. Sur la muqueuse de l'intestin des hémorragies. Sur les frottis partout beaucoup de bâtonnets.
39. *Sp. mugozar.* Toutes les glandes hypertrophiées. Sur les frottis très peu de bâtonnets.
40. *Sp. mugozar.* Glandes sous-maxillaires et subaxillaires hypertrophiées et hypérémiées, dans la rate 2 petits nodules. Sur les frottis très peu de bâtonnets.
41. *Sp. mugozar.* Glandes lymphatiques partout hypertrophiées. Sur les frottis très peu de bâtonnets.
42. *Sp. mugozar.* Bubon cervical. Dans le poumon gauche le lobe inférieur ne laisse pas passer l'air, adhère à la paroi costale. Rate hypérémiée avec des nodules. Sur les frottis des poumons beaucoup de bâtonnets.
43. *Sp. mugozar.* Il n'y avait pas de signes prononcés. Sur les frottis très peu de bâtonnets. On a infecté avec une culture un cobaye en frictionnant la peau rasée du ventre; le cobaye a succombé 6 jours après.

44. *Sp. mugozar.* Il n'y avait pas de signes visibles. On a infecté avec une culture un cobaye en frictionnant la peau rasée du ventre; le cobaye a succombé 7 jours après.
45. *Sp. mugozar.* Il n'y avait pas de signes visibles. On a infecté un cobaye avec une culture en frictionnant la peau rasée du ventre; le cobaye a succombé 5 jours après.
46. *Sp. mugozar.* Sous le péritoine paquet de glandes hypertrophiées et soudée ensemble, dans la rate deux nodules. Sur les frottis beaucoup de bâtonnets.
47. *Sp. mugozar.* Il n'y a pas de signes visibles. On a infecté avec des cultures un cobaye en frictionnant la peau rasée du ventre; le cobaye a succombé 5 jours après.
48. *Sp. mugozar.* Glandes sous-maxillaires, cervicales et subaxillaires hypertrophiées. Le foie contient de grands uodules. Sur les frottis très peu de bâtonnets.
49. *Sp. mugozar.* Glandes sous-maxillaires hypertrophiées. Dans le foie et la rate de grands nodules. Bâtonnets dans la moelle osseuse.
50. *Sp. mugozar.* Bubon cervical gauche. Sur les frottis du bubon des bâtonnets.
51. *Sp. mugozar.* On a infecté avec des cultures un cobaye en frictionnant la peau rasée du ventre; le cobaye a succombé 6 jours après.
52. *Sp. mugozar.* Glandes cervicales hypertrophiées; sur la plèvre beaucoup d'hémorragies ponctuées. Dans le foie et la rate de grands nodules en quantité peu considérable. Des bâtonnets sur les frottis du foie.
53. *Sp. mugozar.* On a infecté avec des cultures un cobaye en frictionnant la peau rasée du ventre; le cobaye a sneccombé 7 jours après.
54. *Sp. mugozar.* Bubon fémoral bilatéral. Des nodules dans le foie et la rate. Dans le bubon beaucoup de bâtonnets.
55. 5/VIII. Canton Djambeita. *Cricetus cricetus.* Glandes sous-maxillaires hypertrophiées. hémorragies dans la plèvre. Des nodules dans le foie et la rate hypertrophiée. Peu de bâtonnets sur les frottis. On a infecté un cobaye en frictionnant la peau rasée du ventre, le cobaye a succombé 6 jours après.
56. 24/VIII. Canton Djambeita. *Alactaga elator.* Glandes fémorales hypertrophiées, rate hypertrophié avec de petits nodules. Sur les frottis peu de bâtonnets. On a infecté un cobaye en frictionnant la peau rasée du ventre; le cobaye a succombé 10 jours après.



Sur l'influence de la rœntgenisation des testicules sur la prostate.

Recherches expérimentales

par **M. Nemenov.**

(Section d'Anatomie pathologique et Cabinet rœntgenologique à la Clinique des maladies de la peau de l'Institut Impérial de Médecine Expérimentale et Laboratoire de Rœntgenologie central de l'Institut de Médecine pour Femmes).

Introduction.

En 1911 le professeur Wilms (Heidelberg) a proposé, dans un article publié dans le № 36 de *Münchener mediz. Wochenschrift* un nouveau traitement de l'hypertrophie de la prostate. Ce traitement consiste dans la rœntgenisation des testicules. Les considérations qui ont conduit Wilms à cette idée sont les suivantes: il existe un lien indubitable entre les testicules et la prostate; on applique avec un but curatif la castration et la ligature du *vas deferens* au cas de l'hypertrophie de la prostate. Puis Wilms trouve une analogie entre l'hypertrophie de la prostate et les myomes da la matrice: 1) au point de vue embryologique la prostate se rapproche de la matrice (3), elle embrasse les élements embryonnaires de la matrice les canaux de Müller; 2) l'hypertrophie de la prostate n'est autre chose qu'une néoformation, une adénomyome. D'autre part, on connaît quels résultats brillants au point de vue de la diminution des tumeurs, on obtient à l'irradiation des ovaires au cas des myomes de la matrice. Etant donné qu'il existe une conception, suivant laquelle dans ce traitement des fibromyomes de la matrice par l'irradiation des ovaires est détruite la substance (hormon) qui favorise le développement de la tumeur, Wilms suppose que, par analogie, peut être détruit à l'aide des rayons de Rœntgen dans les testicules l'hormon qui favorise le développement de l'hypertrophie de la prostate.

Les considerations théoriques de Wilms donnent ainsi non seulement la possibilité d'établir un nouveau traitement de l'hypertrophie de la prostate, mais, comme le croit aussi l'auteur de la théorie, nous permettent aussi de trouver la clef de l'étiologie de la maladie.

Wilms cite comme preuve expérimentale de sa théorie un seul

cas clinique. Un malade avec l'hypertrophie de la prostate et la retention complète de l'urine a commencé à uriner 5 jours après une seule irradiation des testicules (dose: 6 x). Il faut pourtant faire remarquer qu'avant l'irradiation et durant les 5 premiers jours qui ont suivi l'irradiation, ce malade a subi une cathéterisation régulière, se trouvant tout ce temps sous l'observation clinique.

Faut il dire que le cas donné n'est nullement démonstratif? Qui ne sait pas que des malades atteints de l'hypertrophie de la prostate et de la rétention de l'urine à la suite de cette affection, commencent à uriner par eux-mêmes, lorsqu'ils gardent le lit et sont cathéterisés d'une manière systématique. Enfin 5 jours présentent un intervalle si court que l'on doit supposer que non seulement l'action des rayons de Rœntgen n'aurait pas pu retentir sur l'activité de la prostate hypertrophiée, mais aurait pu à peine provoquer des changements sensibles dans les testicules. Il faut faire pourtant remarquer que Hock a fait avant Wilms une communication analogue au premier congrès urologique allemand.

Dans la suite Ehrmann et Tappeiner ont appliqué en clinique le traitement proposé par Wilms. Ehrmann décrit deux cas d'hypertrophie de la prostate, traités par la rœntgenisation des testicules. Dans un cas (prostate molle glandulaire) il y avait une amélioration sensible 8 jours après l'irradiation; dans l'autre cas (prostate compacte) le traitement n'a pas donné de résultats.

Tappeiner a traité l'hypertrophie de la prostate par la rœntgenisation des testicules dans 5 cas.

Dans 3 cas l'auteur a constaté une amélioration et dans 2 cas le traitement est resté sans résultats. L'article de Wilms, bien que le lien embryologique qu'il établit entre la matrice et la prostate soit forcé et que ses considérations théorique exigent encore des preuves, m'a suggéré l'idée d'essayer d'élucider par voie expérimentale, par la rœntgenisation des desticules le lien entre ces derniers et la prostate.

J'ai choisi les chiens comme animaux d'expérience parce que ces animaux se prêtent le mieux à l'irradiation isolé des testicules. Le scrotum du chien permet de tirer les testicules si loin en arrière qu'à la position du chien sur le dos ils sont bien éloignés de la prostate. En outre, on a fait peu d'expériences sur l'irradiation des testicules de chien par les rayons de Rœntgen. Presque tous les auteurs qui ont étudié l'action des rayons de Rœntgen sur les testicules ont fait des expériences sur des souris, des cobayes et des lapins. Mais chez ces animaux il est presque impossible d'irradier séparément les testicules et la plupart des auteurs en étudiant le problème de l'action des rayons de Rœntgen sur les testicules, ont irradié des animaux entiers en plaçant quelquefois plusieurs dans un panier.

Mon travail sur les chiens m'a donné ainsi la possibilité d'augmenter le nombre peu nombreux d'observations sur l'action des rayons de Rœntgen sur les testicules du chien.

La partie anatomo-pathologique de mon travail a été faite dans la section d'Anatomie Pathologique de l'Institut Impérial de Médecine Expérimentale, dont le chef M. A. Selinov a mis gracieusement à notre disposition son laboratoire. La rœntgenisation des chiens a été faite aux laboratoires rœntgenologiques de l'Institut Impérial de Médecine Expérimentale et de l'Institut de Médecine pour Femmes qui se trouvent sous ma direction. La première expérience a été faite le 30 mars 1912.

PREMIÈRE PARTIE.

Action des rayons de Rœntgen sur les testicules.

I.

Revue bibliographique.

En 1903 Albers-Schönberg a décrit dans le № 43 de *Münch. Mediz. Wochenschr.* l'action étonnante des rayons de Rœntgen sur les testicules des lapins et des cobayes.

Sous l'influence de l'irradiation par ces rayons ces animaux perdent la propriété de féconder les femelles. L'état général des animaux irradiés ne change pas. L'excitation sexuelle n'est pas altérée, il en est de même en ce qui concerne la faculté du coït.

Les femelles malgré le fait qu'elles ont séjourné pendant un temps assez long avec des mâles irradiés n'engrossaient pas. Albers-Schönberg explique ce fait par la nécro- ou l'azoospermie provoquée par l'irradiation.

En tout Albers-Schönberg a soumis à l'irradiation 5 lapins et 6 cobayes. Les animaux étaient placés 4 à 5 ensemble dans une boîte avec un fond à toile à voile et étaient irradiés d'en bas. La durée totale de l'irradiation etait de 195 à 1218 minutes.

Dans 14 cas les animaux furent placés après l'irradiation avec des femelles pour un temps de 19 jours à 5 mois et malgré le fait que les animaux s'accouplaient très souvent, pas une femelle ne s'est pas montrée fécondée. Après l'autopsie de 8 animaux irradiés l'azoospermie a été constatée dans 7 cas et ce n'est que dans un cas (l'animal a été irradié durant 105 minutes) que des filaments séminaux immobiles peu nombreux *(oligo-necrospermia)* ont été constatés.

Peu de temps après la publication de l'article cité d'Albers-Schönberg, Frieben a publié les rèsultats de l'étude anatomo-pathologique des animaux irradiés par Albers-Schönberg.

Tandis que les organes internes des animaux irradiés (coeur, poumons, foie, rate et reins) ne présentaient pas de changements au point de vue macroscopique, les testicules étaient 2 à 3 fois plus petits que des testicules normaux. L'éxamen microscopique a permis de constater au lieu de l'epithélium spermatogène des tubes seulement des lumières larges avec un reste de „cellules" ridées prèsentant souvent une dégénerescense muqueuse. La spermatogénése fait complètement défaut".

Il faut faire remarquer que les recherches de Frieben ne sont pas tout à fait satisfaisantes dans les détails, mais en général cet auteur a donné une réponse satisfaisante à la question de savoir, pourquoi les animaux irradiés ont perdu la faculté de féconder.

Dans les testicules s'accomplit sous l'influence de l'irradiation un processus dégénératif (sans signes d'inflammation). Les cellules spermatogènes sensibles périssent, la spermatogenèse cesse.

Scholz et Seldin (1904) confirment les résultats d'Albers-Schönberg et de Frieben en établissant que l'action du radium entraîne des changements complètement analogues dans les testicules.

London et Thaler ont aussi étudié l'action du radium sur les testicules.

Buschke et Schmidt (1905) ont fait aussi des expériences de l'irradiation des testicules des cobayes et des lapins par les rayons de Rœntgen. Une partie de leurs expériences ces auteurs ont fait en irradiant les testicules mis à nu après avoir coupé la peau. A la suite des traumatismes et de infections accidentelles une grande partie de ces animaux ont péri. C'est pourquoi ils ont irradié une autre série d'animaux (des lapins) à travers la peau.

Les conclusions auxquelles arrivent ces auteurs coïncident avec celles d'Albers-Schönberg et de Frieben: les testicules irradiés diminuent d'une manière prononcée de volume, la diminution s'accentuant avec l'intensité de l'irradiation.

Les changements pathologiques dans les testicules se trouvent aussi dans un lien proportionnel avec l'intensité de l'irradiation et le temps qui s'est écoulé après l'irradiation. Après une irradiation faible on trouve des changements dégénératives dans l'épithélium spermatogène de certains tubes, tandis que les filaments séminaux restent mobiles. Mais à une irradiation plus intensive, lorsque les changements dans les canalicules sont plus considérables, les filaments séminaux peuvent se trouver en assez grande quantité dans l'appendice et être mobiles. Les cellules de Sertoli de même que l'épithélium des tubes droits de

l'appendice restent dans ce cas intactes. Le tissu interstitiel reste aussi intact. Ce n'est que dans un cas où le processus d'atrophie a été très accentué que les auteurs auraient observé l'absence de la plus grande partie de cellules de Sertoli et des changements dégénératifs bien prononcés dans l'épithélium des tubes droits de l'appendice.

Buschke et Schmidt indiquent aussi qu'ici a lieu un processus dégénératif primaire de l'épithélium spermatogène très sensible aux rayons.

Durant les années 1904—1905 Bergonié et Tribondeau ont fait une série de communications sur les changements qui ont lieu dans les testicules des souris blanches sous l'influence de l'irradiation par les rayons de Rœntgen.

Ces auteurs, dont les résultats confirment ceux d'Albers-Schönberg et de Frieben, ont étudié d'une manière plus détaillée le tableau microscopique des testicules que l'on obtient à la suite de l'irradiation par les rayons de Rœntgen; ils ont fixé l'attention non seulement sur les changements dans les cellules spermatogènes, mais aussi sur les changements dans le tissu interstitiel ou, comme s'expriment les auteurs français, dans la glande interstitielle du testicule.

Puis ils essaient d'élucider le problème de la régénération du testicule lésé et d'établir le lien entre la sensibilité de l'épithélium aux rayons et l'âge de l'animal.

Les données constatées par Bergonié et Tribondeau peuvent être résumées comme suit.

Sous l'influence d'une irradiation assez intensive la spermatogénèse cesse tout à fait à la suite de la destruction des cellules spermatogènes. Les rayons de Rœntgen agissent directement sur les cellules spermatogènes, mais non pas par voie indirecte par l'action sur les nerfs ou sur les terminaisons nerveuses.

Les moins résistants sont, suivant l'opinion de Bergonié et Tribondeau, les grands spermatocytes. Ils périssent pour la plupart par karyorrhexis.

Les filaments de chromatine qui se colorent au début fortement par la safranine, forment des microsomes sous formes de spyrèmes et ensuite se dispersent dans la cellule et perdent la propriété de se colorer. Rarement les grands spermatocytes se detruisent par picnose des noyaux.

Les petits spermatocytes sont plus résistants. Leurs noyaux subissent l'altération picnotique: la chromatine est précipitée par masses du centre du noyau (spermatogonies) ou sous forme d'anneaux (spermatides). Les noyaux picnotiques se fragmentent et se résorbent.

A la suite de la destruction de l'épithélium spécifique les dimen-

sions des tubes diminuent jusqu'au $^1/_3$ du volume normal; leur forme change et la *membrana propria* forme des plis et devient comme épaissie. Il ne reste que les cellules de Sertoli, dont le nombre augmente; elles se divisent par amitose. Leur protoplasme contient beaucoup de gouttes de graisse dispersées sans ordre. Les cellules de Sertoli sont, suivant Bergonié et Tribondeau, des cellules nouricières et elles ne peuvent aucunement se transformer en cellules spermatogènes (avril 1905).

Dans des testicules actifs les tubes sont disposés d'une façon très serrée. Au contraire des tubes en repos (dans la vieillesse) sont séparés par le tissu interstitiel. Après l'atrophie de l'épithélium spécifique des tubes provoquée par les rayons de Rœntgen, la glande interstitielle (le tissu interstitiel) se développe et dépasse quantitativement 4 fois $^1/_2$ la norme.

Une telle hypertrophie de la „glande interstitielle“ est plus accentuée après l'irradiation des testicules actifs et, au contraire, plus faible après la rœntgenisation des testicules peu actifs où la glande interstitielle est par elle-même fortement développée. Cette hypertrophie serait plus prononcée après une irradiation pas trop forte, „car una rœntgenisation énergique conduit à la destruction du tissu interstitiel même.“ Bergonié et Tribondeau considèrent que les tubes diminuent après l'irradiation non seulement en ce qui concerne leurs dimensions, mais qu'ils périssent en partie complètement et que leur quantité diminue.

Dans un cas où ces auteurs ont compté les canalicules dans un testicule normal et irradié, dans le dernier il y avait 45 tubes pour 100 tubes dans le premier.

Dans une de leurs premières communications (XII 1904) Bergonié et Tribondeau affirment que 1 mois $^1/_2$ après l'irradiation ils ont observé des signes de dégénérescence (divisions amitotiques des noyaux de Sertoli et figures de karyokinèse dans les cellules spermatogènes), mais dans la communication du mois d'avril 1905 en se basant sur l'examen des testicules 2 à 3 mois après la dernière séance, ils arrivent à la conclusion que „l'aspermatogénèse expérimentale est définitive.“ La dégénérescence des élements spermatogènes progresse durant un long temps après l'irradiation.

Villemin (1906) qui a étudié aussi le problème de la régénération de l'épithélium spermatogène arrive à une conclusion analogue à celle de Bergonié et Tribondeau.

Cet auteur suppose 1) que la régénération des tubes n'est possible qu'au cas où la destruction n'est pas complète, si les spermatogonies ne sont pas lésées;

2) les cellules spermatogènes ne peuvent pas se former des cellules de Sertoli.

Dans la même communication Villemin se prononce sur la signification des cellules interstitielles (de la glande interstitielle). Vu le fait que malgré la destruction complète des cellules spermatogènes, la faculté du coït se conserve il est évident que ce n'est que la glande interstitielle qui influence l'état général de l'organisme.

Les recherches de Regaud et Blanc (1906) présentent un intérêt particulier. En confirmant les données obtenues par Bergonié et Tribondeau, ces auteurs essaient d'élucider dans quelle suite sont lésées et détruites sous l'influence des rayons de Rœntgen les différentes espèces de cellules spermatogènes.

Ils arrivent à la conclusion que les générations les plus vieilles de cellules spermatogènes sont plus sensibles aux rayons c. a. d. qu'avant tout sont lésées et périssent les spermatogonies, ensuite les spermatocytes; les spermatides sont encore moins sensibles, tandis que les spermatozoïdes changent très peu.

La destruction de différentes générations de cellules spermatogènes se fait dans un ordre inverse par rapport à ce qui a lieu à la ligature du canal déférent; ici les spermatozoïdes périssent les premiers.

Par ce fait Regaud et Blanc expliquent la constatation, suivant laquelle les changements dans les testicules apparaissent tout d'un coup après une certaine „période d'incubation". Huit jours après l'irradiation on peut constater à l'examen attentif que les spermatogonies ont disparu pour la plupart. Par le même fait ces auteurs expliquent la dégénérescence définitive de l'épithélium spermatogène: avec la destruction des spermatogonies disparaissent les élements qui donnent naissance aux générations suivantes de cellules spermatogènes (spermatocytes, spermatides etc.). Celles-ci terminent leur vie après la mort des cellules-mères, se désaggrègent et se résorbent.

Regaud et Blanc considèrent que la régénération n'a pas lieu: là où la spermatogonies ont pèri, il ne peut plus avoir lieu de spermatogénèse; là où les spermatogonies ne sont pas lésées, ne sont pas lésées non plus les autres cellules spermatogènes.

La plupart des cellules sont lésées pendant la karyokinèse et ce processus présente le moment de la moindre résistance des cellules.

Ces obsérvations sont conformes aux constatations connues, suivant lesquelles les cellules les moins différenciées sont au plus haut degré sensibles aux rayons de Röntgen: les spermatogonies sont les cellules les moins differenciées de toutes les cellules spermatogènes.

Dans la communication suivante Regaud et Blanc touchent le problème très intéressant des anomalies qu'ils ont observées

dans les cellules spermatogènes après l'irradiation des testicules par les rayons de Rœntgen. On observe des anomalies surtout du côté des noyaux déjà à partir du 4ième jour après l'irradiation; on peut observer ces anomalies dans les spermatides. Les anomalies des noyaux sont des types différents:

1) à coté d'un noyau d'aspect normal on observe 2 à 3 petits noyaux (noyaux satellites, comme les appellent les auteurs français);

2) noyaux géants accompagnés de plusieurs satellites;

3) cellules avec deux noyaux de grandeur égale ou inégale.

Les auteurs voient la cause de ces anomalies dans le développement anormal de la karyokinèse. Suivant leurs observations, dans les testicules irradiés la mitose se termine souvent par la répartition inégale de la chromatine entre les cellules-filles; ils ont eu l'occasion d'observer encore plus souvent des chromosomes errants, c. a. d. des chromosomes qui ne se dirigent pas aux bouts du fuseau. La répartition non uniforme de la chromatine entraîne la formation des noyaux de grandeur différente dans les cellules-filles. Les chromosomes errants se transforment en „satellites". L'arrêt de la division du cytoplasme conduit à la formation des cellules avec deux noyaux. Les noyaux — satellites se fragmentent pour la plupart et forment des grains de chromatine qui émigrent dans le protoplasme du spermatozoïde et s'y résorbent. Beaucoup de noyaux géants deviennent têtes anormales des spermatozoïdes: gonflées, vacuolisées, tordues avec plusieurs appendices.

D'autres spermatozoïdes avec des têtes à forme régulière, mais de dimensions anormales se dévelloppent plus loin et, peut être, passent même dans le liquide séminal, ils auraient pu ainsi provoquer à la fécondation l'anomalie de l'embryon.

Dans une des communications ultérieures, Regaud et Blanc complètent leurs recherches sur l'influence des rayons de Rœntgen sur les différentes espèces de cellules spermatogènes et sur le syncytium de Sertoli.

Ils croient contrairement à l'opinion des auteurs cités plus haut que les cellules de Sertoli sont très sensibles aux rayons, beaucoup plus sensibles que les grands spermatocytes. Les premiers jours après l'irradiation une grande quantité de cellules de Sertoli subit une dégénérescence. Le 8ième jour ces changements ne se voient plus, car les élements nécrosés sont résorbés par les parties voisines saines du syncytium. Les auteurs confirment plus loin de nouveau que les spermatogonies sont les cellules les plus sensibles de toutes les cellules spermatogènes. Les jeunes spermatocytes sont aussi très sensibles. La nécrobiose de ces cellules des spermatogonies et des cellules de Sertoli con-

duit à la formation des vacuoles qui présentent avec les formes monstrueuses des spermatides les signes uniques de la dégénérescence durant la première semaine après l'irradiation.

Les préspermatides (cellules d'Ebner) ne présentent d'anomalies qu'au moment de la karyokinèse.

Les spermatozoïdes sont très peu sensibles même dans les premiers stades de leur développement. Les formes monstrueuses continuent leur développement anormal et sont enfin phagocytées par le syncytium.

Dans un de ces derniers travaux Regaud revient au problème des changements provoqués par les rayons de Rœntgen dans les cellules nourricières de Sertoli. Il complète ses observations qu'il a décrites avec Blanc et émet à cette occasion une série de nouvelles considérations sur le rôle du syncytium nourricier.

Regaud croit que les cellules de Sertoli sont plus sensibles aux rayons que les spermatocytes et les spermatides. Il suppose que ces derniers et aussi les spermatozoïdes périssent à la suite de l'affection des cellules de Sertoli qui les nourrissent. Regaud signale que, à coté des cellules de Sertoli fortement lésées, il y a des canalicules où ces cellules n'ont pas subi de changements. Regaud explique une telle influence inégale des rayons sur les cellules de Sertoli par le fait que les cellules se trouvèrent au moment de l'irradiation dans des stades différents en ce qui concerne leur activité. Les cellules de Sertoli sont destinées, suivant l'opinion de Regaud, à la nutrition de l'épithélium spermatogène; elles absorbent les matières nutritives du plasma se trouvant près des canalicules et les transmettent aux élements spermatogènes; elles élaborent aussi des substances riches en matières lipoides et les sécrétent dans le centre du canalicule.

Suivant cet aurteur, les élements nourriciers joueraient le rôle d'un épithélium glandulaire dans lequel naissent, se transforment et se multiplient les cellules spermatogènes.

Mais l'activité de ces élements nourriciers se manifeste avec une intensité différente. Les spermies (spermatozoïdes futurs), comme les cellules les plus éloignées de la périphérie des canalicules, dépendent plus que toutes les autres cellules de l'activité nourricière des cellules de Sertoli.

A un moment déterminé les spermies forment des fuseaux et sont attirées vers la périphérie des canalicules où les noyaux des spermatozoïdes futurs entrent dans un lien étroit avec les noyaux de Sertoli („spermatophores").

Regaud considère ce moment comme le moment de la plus haute intensité de l'activité des cellules de Sertoli. C'est justement à ce

moment qu'elles sont le plus facilement affectées par les rayons de Rœntgen, tandis que les cellules „en repos“ ne sont pas affectées.

Regaud et Dubreuil (1907 et 1908) ont étudié le problème de savoir si les mâles irradiés sont capables de féconder. Ils ont pris comme point de départ la supposition que la fécondation peut se faire aux dépens de la provision de filaments séminaux qui se sont conservés durant plusieurs semaines après l'irradiation dans les appendices.

Durant 20 mois les mâles irradiés se sont accouplés 20 fois avec différentes femelles saines. Pas une seule femelle n'est devenue grosse.

Les expériences de contrôle ont donné les résultats suivants: chez des animaux sains il y avait sur 20 accouplements 18 cas de grossesse; chez des animaux irradiés sur 32 accouplements avec 16 femelles différentes il n'y avait pas un seul cas de grossesse. Regaud et Dubreuil en font la conclusion que les filaments séminaux, qui, selon les autres auteurs, restent intacts chez les animaux irradiés, ne peuvent plus servir à la fécondation de l'oeuf.

Regaud et Dubreuil signalent que chez les animaux irradiés la propriété de l'excitation sexuelle reste non seulement conservée, mais que cette excitation est chez eux même sensiblement exaltée par rapport à la norme. Ils se rallient à l'opinion de Bouin et Ancel et aussi à celle de Villemin, suivant laquelle la glande interstitielle intacte (cellules de Leidig) garde sans changement son caractère sexuel.

Les recherches de Regaud et Dubreuil concernant l'influence des rayons de Rœntgen sur les testicules de jeunes animaux n'ayant pas encore atteint l'âge de puberté sont aussi très intéressantes.

Les bandes séminales dans les testicules durant les premières semaines après la naissance contiennent deux espèces de cellules; beaucoup de petites cellules épithéliales avec des limites non distinctes et une petite quantité de cellules bien delimitées connues sous le nom des „ovules mâles“.

Pour leurs expériences les auteurs se sont servi des lapins de trois mois environ. Avec un tube de dureté moyenne (distance de l'étincelle 11 à 12 cm.) ils ont fait l'irradiation durant 30 minutes. La dose correspondait à la teinte 2 du chromoradiomètre de Bordier. Une telle dose produit, suivant les observations des auteurs, dans les testicules d'un lapin adulte de forts changements qui exigent plusieurs mois pour le rétablissement. On extirpait les testicules après des intervalles différents après l'irradiation.

Les auteurs arrivent aux conclusions suivantes.

La rœntgenisation du testicule d'un jeune lapin avant le début de la spermatogénèse provoque la désagrégation d'une plus grande quantité

de cellules qu'à la norme. Subissent la désagrégation principalement les cellules dites „ovules mâles“; les petites cellules épithéliales, au cas où elles sont lésées, le sont très peu.

La rœntgenisation n'empêche pas, ne change pas et même ne retarde pas d'une manière sensible le développement du testicule. Les bandes séminales continuent à se développer; la quantité de cellules augmente; le plupart des karyokinèses a lieu d'une manière normale; l'apparition des premiers spermatocytes ne retarde pas.

L'épithélium spermatogène dans ce stade du développement chez de jeunes animaux résiste ainsi beaucoup mieux aux rayons que l'épithélium des animaux adultes.

Herxheimer et Hoffmann (1908), en se basant sur leurs expériences sur les testicules des lapins, sont arrivés aux conclusions, différant de celles de Regaud et Blanc en ce qui concerne le problème de savoir quelles cellules spermatogènes sont plus sensibles aux rayons de Rœntgen. Ces auteurs considèrent que les spermatides qui atteignent le degré d'organisation le plus élevé sont les cellules les plus sensibles, bien qu'il reconnaissent que les rayons n'agissent pas sur les filaments séminaux.

L'opinion de Herxheimer et Hoffmann, suivant laquelle les spermatides sont les cellules les plus sensibles, est fondée sur les considérations suivantes.

Il est vrai qu'avant tout saute aux yeux la diminution de spermatogonies et de spermatocytes; la quantité de spermatides n'a pas diminué, à ce qu'il paraît; mais il faut prendre en considération, disent ils, que la spermiogénèse, c. a. d. le passage des spermatides dans les filaments séminaux cesse. Pourtant la quantité de mitoses diminue au début peu et les spermatogonies peuvent se développer en spermatocytes et en spermatides. Leur nombre devait ainsi être au-dessus de la norme, ce qui n'est pas le cas. Il faut ainsi conclure qui les spermatides se détruisent dés le debut.

Les formes dégénératives que Herxheimer et Hoffmann ont rencontrées, ont été: cellules vacuolisées, toutes les espèces possibles de désagrégation des noyaux, spermatocytes et spermatides à plusieurs noyaux et des vraies cellules géantes.

En ce qui concerne les cellules de Sertoli, elles augmentent beaucoup dans leur dimensions.

Herxheimer et Hoffmann signalent un fort développement du tissu interstitiel, surtout des cellules interstitielles (de Leidig), dans lesquelles ils auraient observé, ainsi que dans les cellules de Sertoli, des mitoses.

Ils supposent qu'à une action énergique des rayons de Rœntgen de longue durée peuvent être lesées en même temps les cellules de Sertoli et les cellules interstitielles, ce qui peut donner un tableau analogue à celui de l'*orchitis fibrosa*.

Dans leurs préparations ils ont pu établir partout la présence des spermatogonies qui reçoivent, quelque temps après, la possibilité de se développer et de donner un tableau de la régénération complète des canalicules.

Simmonds (1909) n'a jamais observé sur ses préparations de tableau de l'*orchitis fibrosa*. Cet auteur qui a fait des expériences sur des cobayes (14) et des souris blanches (16) a voulu élucider:

1) dans quelle mesure et comment se fait la régénération de l'organe lésé;

2) dans quel rapport les cellules interstitielles se trouvent à la lésion;

3) l'influence des irradiations courtes, mais intensives.

On irradiait ces animaux en exposant à l'action des rayons tout le corps de l'animal. Habituellement l'irradiation se faisait durant 5 minutes, 5 jours de suite avec un intervalle de 5 jours. En tout l'irradiation durait 30 à 400 minutes. Dans certains cas les testicules furent extirpés déjà quelques jours après l'irradiation, dans d'autres longtemps après (jusqu'à 200 jours).

L'auteur n'indique pas le degré de la dureté des tubes, mais dit que pour la plupart on se servait des tubes de la même dureté. On irradiait non seulement tout le corps de l'animal, mais aussi plusieurs animaux à la fois.

Simmonds arrive à la conclusion qu'il n'y a pas de rapport de proportionnalité entre la durée de l'irradiation et le résultat obtenu. Il attribue ce fait à la résistance individuelle des individus isolés et même des portions différentes du même organe.

Quelque soit l'intensité de l'irradiation, la destruction des cellules ne se manifeste qu'un certain intervalle de temps après.

Il est difficile de déterminer quelles cellules spermatogènes sont détruites les premières, car le processus de destruction survient tout d'un coup.

Les rayons n'agissent point sur les filaments séminaux. Simmonds suppose que les cellules de Sertoli ne se sont pas multipliées, mais qu'elles se révèlent mieux grâce à la destruction des élements spermatogènes.

Si profonde que soit la destruction des cellules spermatogènes, dans la plupart des cas on peut encore trouver des canalicules, où il y a un épithélium spécifique. De ces canalicules se régénérent, suivant Simmonds, l'organe lésé.

Chez 9 souris qui ont été irradiées de 84 à 270 minutes, l'auteur n'a presque pas trouvé après 5 à 50 jours de cellules spermatogènes et

chez 6 autres souris il a pu trouver après 70 à 120 jours une quantité assez grande de canalicules normaux. Le processus de régénération est encore plus prononcé chez des cobayes.

Chez certains animaux on n'extirpait d'abord qu'un testicule; l'autre un certain temps après, et on observait dans le testicule examiné plus tard une quantité beaucoup plus grande de canalicules normaux.

Simmonds attribue une signification importante aux cellules interstitielles (de Leidig) dans le testicule lésé.

Presque parallélement à la destruction de l'épithélium spermatogène on observe le développement des cellules interstitielles, si un intervalle suffisant est passé après l'irradiation. On observe aussi un phénomène inverse: avec la régénération des cellules spermatogènes a lieu le développement invers des cellules de Leidig. Il existe ainsi, suivant l'opinion de Simmonds, un lien entre les cellules spermatogènes et les cellules de Sertoli et les cellules interstitielles assument, à ce qu'il paraît, certaines fonctions des cellules spermatogènes détruites.

Simmonds croit que ce sont les nerfs trophiques qui sont lésés directement (il n'en donne pas de preuves) ce qui explique le fait pourquoi les changements apparaissent après une certaine période d'incubation même au cas d'une irradiation très forte. Il explique la fait que les cellules de Sertoli ne réagissent pas à l'irradiation par cela que les cellules spermatogènes ayant un degré élevé d'organisation seraient lésées plus facilement.

Hida et Kuga (1911) ont fait leurs expériences sur 3 lapins et 5 coqs. Ils prouvent que les testicules des coqs sont plus sensibles aux rayons de Rœntgen que les testicules des lapins.

Dans le reste ils confirment les résultats obtenus par la plupart d'autres auteurs: de toutes les cellules spermatogènes les spermatogonies sont les plus sensibles; ensuite viennent les spermatocytes; les spermatides sont moins sensibles; les spermatozoïdes et les cellules de Sertoli ne subissent pas de changements.

Le tissu interstitiel se développe après la destruction de l'épithélium spermatogène.

Ces auteurs considèrent aussi que ce sont les cellules qui sont lésées directement et que si les vaisseaux sont lésés, ce n'est que par voie secondaire.

Dans un cas ils ont observé une hémorragie interstitielle qu'ils considerent, nous ignorons pour quelle raison, comme „très caractéristique", bien qu'aucun autre auteur ne signale d'hémorragie pareille.

Durant les années 1909—1911 Regaud et Nogier ont publié une série de communications sur l'action des rayons de Rœntgen sur les

testicules de différents mammifères (chien, chat, mouton) et sur les conditions techniques nécessaires pour la destruction complète des élements spermatogènes.

Ils irradiaient par des tubes dures en filtrant les rayons par une plaque d'aluminium d'épaisseur de 2 à 3 mm.

Ils arrivent aux conclusions suivantes:

1) Les testicules du chien, du chat et du mouton sont aussi sensibles aux rayons de Rœntgen que les testicules d'autres mammifères.

2) Chez ces animaux on peut provoquer à l'aide des rayons de Rœntgen la destruction complète et définitive des élements spermatogènes, si l'on se sert d'un tube dure et des rayons filtrés. Pourtant ils supposent que, à ce qu'il paraît, on ne peut pas obtenir ce résultat en une séance. Ils réussirent à provoquer une destruction complète semblable de l'épithélium spermatogène en 2 séances avec un intervalle de 1 mois, la dose employée chaque fois étant égale à 4 d'après le chromoradiomètre de Bordier.

3) Dans les canalicules du chat et du chien se trouvent des cellules „oviformes" („archispermocytes"?) non sensibles aux rayons; ces cellules ne peuvent pas se transformer en cellules spermatogènes. Bien qu'elles puissent survivre l'irradiation, leur quantité diminue peu à peu.

Chez un de deux moutons irradiés (qui est resté plus longtemps vivant après l'irradiation) les auteurs constatent une hypertrophie considérable de la glande interstitielle.

Kyrle (1910) a essayé d'élucider sur un grand nombre de chiens si l'on peut provoquer à l'aide des rayons de Rœntgen dans les testicules de cet animal un tableau analogue à celui que l'on observe sous l'influence de différents processus pathologiques sur les testicules de l'homme (*orchitis fibrosa, fibrosis testis* etc.).

Sur un grand nombre de cas (35) ce n'est que dans deux cas qu'il a réussi à obtenir des changements ressemblant au tableau que l'on observe habituellement chez l'homme.

La *membrana propria* des canalicules était épaissie et dans un cas elle a subi même une dégénérescence hyaline; le tissu conjonctif a été bien développé.

Kyrle considère ainsi comme prouvée la possibilité d'obtenir dans les testicules des animaux sous l'influence de l'irradiation par des rayons de Rœntgen un tableau rappelant l'*orchitis fibrosa*.

Pourtant, ainsi qu'il a été indiqué, sur 35 cas on n'a reussi à obtenir un tel tableau que dans 2 cas malgré l'irradiation très forte; les animaux ont été irradiés 3 à 4 fois durant 2 heures et plus.

Kyrle essaie d'expliquer la rareté de ces changements par l'impossibilité d'irradier toujours dans des conditions techniques identiques (chaque

fois avec un tube neuf) et par la résistance individuelle de l'animal. L'auteur considère que la lésion de la *membrana propria* des canalicules est une lésion primaire. Kyrle signale que chez les deux chiens chez lesquels il a obtenu des résultats positifs, il a été observé une dermatite — avec une nécrose étendue consécutive de la peau.

II.
Résumé des données bibliographiques citées.

En résumant les données bibliographiques citées sur l'action des rayons de Rœntgen sur les testicules de différents animaux, on arrive aux conclusions suivantes.

A l'irradiation directe par les rayons de Rœntgen des testicules de différents animaux, ceux-ci perdent le pouvoir de féconder des femelles; l'excitation sexuelle et la faculté du coït ne diminuent aucunement dans ce cas (Albers-Schönberg et beaucoup d'autres auteurs); suivant l'opinion de certains auteurs (Regaud et Dubreuil) l'excitation sexuelle est même exaltée chez les animaux irradiés.

La cause de la perte du pouvoir de féconder consiste, selon l'opinion unanime de tous les auteurs, dans la nécro- et l'azoospermie qui apparait sous l'influence des rayons de Rœntgen à la suite de la destruction de l'épithélium spermatogène des canalicules du testicule.

En ce qui concerne le processus lui-même, qui a lieu dans l'épithélium spermatogène des canalicules, tous les auteurs sont d'accord que c'est un processus de dégénerescence sans signes d'inflammation (l'infiltration par des cellules rondes fait tout à fait défaut).

Tous les auteurs considérent que ce sont les cellules qui sont lésés directement; ce n'est que Simmonds qui suppose que les nerfs trophiques sont lésés directement et que la destruction des cellules est un phénomène secondaire, indirect; par ce fait cet auteur essaie d'expliquer la „période d'incubation“ entre l'irradiation et l'apparition des altérations dans les cellules.

L'action des rayons de Rœntgen sur l'épithélium séminal est élective. Pourtant pas toutes les espèces (générations) de l'épithelium spermatogène sont également sensibles aux rayons.

La plupart des auteurs considèrent, comme les cellules les plus sensibles, les spermatogonies et ensuite les petits spermatocytes (Bergonié et Tribondeau, Regaud et Blanc etc.), tandis que les spermatides sont considérés comme les cellules les moins sensibles aux rayons. Pourtant Herxheimer et Hoffmann, en se basant sur certaines considérations, voient dans les spermatides les éle-

ments les plus sensibles. Simmonds affirme qu'il est impossible d'établir la suite dans laquelle sont détruites les espèces différentes de cellules spermatogènes, car toutes les altérations surviennent d'emblée.

Tous les auteurs considérent que les filaments séminaux sont complètement insensibles aux rayons.

Pourtant Regaud et Dubreuil ont prouvé que les filaments séminaux qui se sont conservés dans les appendices et les vésicules séminales ne sont pas capables à la fécondation les premières semaines après l'irradiation, lorsque les spermatides continuent à se transformer en spermatozoïdes.

En ce qui concerne l'action des rayons de Rœntgen sur les cellules (syncytium) de Sertoli les opinions des auteurs différent. Les uns (Bergonié et Tribondeau) considèrent que sous l'action des rayons et à la suite de la destruction des élements spermatogènes les cellules de Sertoli se développent et augmentent dans leurs dimensions; les autres (Regaud et Blanc, Regaud), au contraire, affirment que les cellules de Sertoli sont encore plus sensibles aux rayons que les spermatides et les grands spermatocytes, mais qu'elles sont facilement affectées par les rayons seulement dans la période de la plus haute intensité de leur activité physiologique (nourricière);

Buschke et Schmidt, Herxheimer et Hoffmann admettent aussi la possibilité de la lésion des cellules de Sertoli par des grandes doses de rayons. Enfin Simmonds, Hida et Kuga et d'autres considèrent que les cellules de Sertoli ne subissent pas de changements.

La *membrana propria*, suivant la majorité des auteurs, ne change pas; elle ne forme que des plis onduleux grâce à ce que les dimensions des canalicules diminuent et la membrane devient comme trop large. Herxheimer et Hoffmann constatent pourtant l'épaississement de la *membrana propria*. Kyrle a observé dans deux cas sous l'influence des doses très considérables de rayons de Rœntgen l'épassissement et même la dégénérescence hyaline de la *membrana propria*.

En ce qui concerne les cellules de Leidig (glande interstitielle) la plupart des auteurs (Bergonié et Tribondeau, Villemin, Regaud et Dubreuil, Herxheimer et Hoffmann, Simmonds, Hida et Kuga et d'autres) signalent leur développement considérable.

Plusieurs auteurs (Villemin, Regaud et Dubreuil) se rallient à l'opinion de Bouin et Ancel, suivant laquelle les cellules de Leidig qui ne sont pas lésées contribuent, comme élements auxquels est propre la fonction de la sécrétion interne, à la conservation du caractère sexuel des animaux irradiés.

Enfin Simmonds suppose que les cellules de Leidig se développent parce qu'elles assument certaines fonctions de l'épithélium spermatogène.

Les recherches de Regaud et Dubreuil établissent la résistance aux rayons du côté des testicules des animaux jeunes (lapins) n'ayant pas atteint encore la puberté. Les petites cellules épithéliales sont complètement insensibles. Les testicules des animaux irradiés continuent à se développer de la manière normale.

Le problème de la régénération des testicules lésés par les rayons de Rœntgen a interessé beaucoup d'auteurs. De ces auteurs Bergonié et Tribondeau, Villemin, Regaud et Blanc considérnt que la régénération est impossible, lorsque toutes les spermatogonies sont détruites par une irradiation assez forte. Regaud et Nogier admettent que l'on peut toujours obtenir ce résultat, si l'on irradie par des rayons durs au moins durant 2 séances. Simmonds suppose pourtant que, même après une irradiation aussi forte que possible, il reste toujours des canalicules isolés intacts qui peuvent servir de source de régénération des testicules. Le fait que des canalicules isolés restent intacts Simmonds attribue à la résistance locale des tissus. Il faut cependant faire remarquer que Regaud et Nogier se sont servis d'une technique beaucoup plus perfectionnée que Simmonds; le dernier auteur irradiait des animaux entiers; la dose et le degré de la dureté des tubes ne furent pas déterminés d'une manière exacte, tandis que Regaud et Nogier irradiaient autant que possible directement les testicules par des rayons durs, filtrés, dont la dose était déterminée exactement.

En ce qui concerne en genéral la technique de l'irradiation de differents auteurs, elle était assez variée et pas toujours satisfaisante. C'est ainsi que certains auteurs ont irradié des animaux entiers (rats, cobayes, lapins) et même plusieurs animaux à la fois (Albers-Schönberg, Simmonds et d'autres). Dans des conditions semblables il est difficile de délimiter l'action directe des rayons sur les testicules et l'influence de l'irradiation de tout l'organisme sur les testicules. On ne peut pas non plus irradier d'une manière uniforme plusieurs animaux à la fois, et les uns sont inévitablement irradiés d'une manière plus forte que les autres. Chez beaucoup d'auteurs on ne trouve pas d'indications concernant la dose appliquée, il n'y a que des indications concernant la durée de l'irradiation (en minutes).

Il est évident qu'on ne peut pas comparer les résultats obtenus à l'irradiation de différents animaux dans des conditions techniques semblables, car, à la même durée de l'irradiation, il peut s'agir de doses bien différentes, la dose dépendant non seulement de la durée de l'irradiation, mais d'une série d'autres conditions, comme par exemple la dureté du tube, la force du courant, la distance etc. Avec une telle technique il est certainement impossible de résoudre le problème de savoir si l'on peut obtenir l'atrophie complète et définitive des testicules.

Il faut pourtant faire remarquer que certains auteurs (Bergonié et Tribondeau, Regaud et Dubreuil, Regaud et Nogier et d'autres) donnent des indications précises concernant la dose et la technique. Ces auteurs ont fait aussi l'irradiation isolée des testicules, en couvrant toutes les autres parties de l'animal avec du plomb.

Dans une partie de leurs expériences Buschke et Schmidt faisaient sortir les testicules du scrotum en incisant a cet effet ce dernier. Nous n'avons pas à insister ici sur tous les inconvénients d'une pareille opération; les auteurs les ont constaté eux-mêmes, car la plupart de leurs animaux ont péri.

III.

Expériences personnelles.

Technique.

Ainsi qu'il a été mentionné, j'ai choisi pour mes expériences des chiens, car:

1) les testicules du chien ce trouvent en dehors de la cavité péritonéale, dans un scrotum, ce qui permet d'irradier les testicules bien isolés, en évitant l'irradiation de la prostate;

2) la prostate du chien est par sa structure voisine de la prostate de l'homme;

3) l'action des rayons de Rœntgen sur les testicules du chien est relativement peu étudiée.

Avant l'irradiation le chien recevait 0,02 à 0,03 de morphium sous la peau; on attachait ensuite fortement, à l'aide des sangles, le chien, se trouvant sur le dos, à une planche spéciale. Les chiens restaient habituellement tout à fait immobiles durant tout le temps de l'irradiation.

Pour irradier seulement les testicules et ne pas laisser tomber les rayons sur la prostate, on tirait les testicules avec le scrotum en arrière. Sous le scrotum on plaçait une lame de plomb de l'épaisseur de 2 mm. perforée de la manière correspondante. On superposait d'en haut une lame semblable perforée de telle manière que les testicules étaient complètement isolés du corps. En outre, l'irradiation se faisait à travers un localisateur en verre de plomb imperméables pour les rayons correspondant en ce qui concerne ses dimensions au diamètre des testicules.

L'irradiation se faisait à l'aide d'un inducteur avec une étincelle de longueur de 40 cm. et un interrupteur de Wehnelt ou „Reckord".

On se servait des tubes de Müller avec un refrigérant à l'eau glacée de la construction de l'auteur.

La dureté des tubes oscillait de 9 à 12 d'après Wehnelt; la force du courant passant à travers le tube oscillait entre 1 et 2 M. A. La distante entre l'anticathode et la surface irradiée était de 18 à 20 cm. On mesurait la dose toujours d'après le radiomètre de Sabouraud et Noiré.

On procédait dans les expériences de la manière suivante:

1) Les animaux recevaient une série de séances (4 à 10) avec des intervalles entre les séances de 1 à 3 semaines, la dose était de 10 à 12 x; on sacrifiait les chiens 60 à 462 jours après la première irradiation (exp. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 10).

2) Les animaux recevaient durant un court intervalle de temps en 1 à 3 fois une dose de 20 à 60 x et ètaient sacrifiés 105 à 242 jours après (exp. 7, 8, 14, 15, 16).

3) Enfin plusieurs chiens ont reçu en une fois une dose considérable (50 à 70 x) et furent saerifiés 5 à 12 jours après (exp. 11, 12, 13).

On tuait les animaux en se servant du chloroforme, on extirpait les organes chez les animaux, lorsqu'ils n'étaient pas encore morts.

On plongeait les organes coupés immédiatement dans le liquide fixateur (habituellement et mélange triacide de Flemming et formaline, dans plusieurs cas le liquide Zenker-Helly). Ensuite venait l'inclusion à la paraffine ou au mélange d'Ouskov et à la celloïdine.

Les préparations fixées dans la formaline étaient colorées par l'hématoxiline et l'éosine ou d'après Van-Gison-Weigert; les préparations fixées dans le mélange de Flemming étaient colorées exclusivement par la Safranine et Lichtgrün ou par la safranine et l'indigocarmin.

On faisait des préparations de différents endroits de l'organe; les préparations incluses à la celloïdine et fixées dans la formaline servaient pour l'examen de tout l'organe et les préparations fixées dans le mélange de Flemming pour l'étude des structures fines.

Je divise les procés-verbaux de mes expériences en deux parties: la première partie (A) où il s'agit de la technique et des changements trouvés dans les testicules est citée dans la première partie du présent travail („nur l'influence des rayons x sur les testicules“); la deuxième partie des procés-verbaux (B) sur les changements trouvés dans la prostate sera citée dans la deuxième partie du travail.

Procès-verbaux des expériences.

Procès-verbal de l'expérience № 1.

A.

Chien № 1, chien de basse-cour adulte, bien développé. Poids: 11 kgr.

Commencement de l'irradiation 30 mars 1912.

Technique. Dureté du tube: 8 d'après Wh. [1]).

Distance de l'anticathode 19 cm.; force du courant I MA.

1ière séance. Dose: 8 x.

6 avril: il n'y a pas de changements visibles du côté des testicules, le poil ne tombe pas.

2ième séance. Dans les conditions citées plus haut il a été appliqué la dose de 10 x.

20 avril: le poil au scrotom est tombé en partie; les testicules ont diminué presque de deux fois et sont devenus flasques (Pendant la premiére séance les testicules n'ont pu être couverts par le localisateur de diamètre de 4 cm. $^1/_2$; à présent ils se couvrent librement).

20 avril. 3ième séance. Les mêmes conditions, excepté la distance l'anticathode qui est dans cette séance et dans les séances suivantes de 18 cm. Dose: 16 à 18 x.

27 avril. Les testicules ont diminué encore. 4ième séance. Dose: 8 à 9 x.

4 mai. Les testicules ont encore diminué, ils sont flasques; le poil au scrotum est tombé; il n'y a pas de dermatite. 5ième séance. Dose: 14 x.

11 mai. Il n'y a pas de dermatite; les testicules continuent à diminuer et sont devenus plus compacts. 6ième séance. Dose: 12 x.

18 mai. Sur la peau une dermatite peu considérable. 7ième séance. Dose: 9 à 10 x.

25 mai. La dermatite a disparu. 8ième séance. Dose: 13 x.

14 juin. 9ième séance. Dose: 18 à 20 x.

28 juin. Il n'y a pas de dermatite. 10ième séance. Dose: 20 à 22 x.

L'irradiation se faisait ainsi durant trois mois et deux jours. Il y avait en tout 10 séances, d'une durée totale de 247 minutes. La dose totale a été 128 à 137 x.

Le chien a été sacrifié le 9 juillet 1912, c. a d. 101 jours après la première séance et 11 jours après la dernière. L'animal pesait 11 kgr. 9.

Le poids du testicule droit a été de 4 gr. 5, du testicule gauche de 4 gr.

On a fait endormir le chien avec du chloroforme et à l'animal encore vivant on a enlevé les testicules et toute la prostate. Les testicules sont flasques; la *tunica albuginea* a de petits plis. On coupe l'organe transversalement et longitudinalement. Le parenchyme est peu succulent, de couleur brun — jaunâtre. On découpe à différents endroits des morceaux et on les plonge dans du liquide de Flemming et en partie dans du formol à $2^0/_0$.

---

1) Wh. = d'après l'échelle de Wehnelt.

Structure microscopique.

Sur les coupes on voit à un faible grossissement des canalicules séminifères coupés transversalement, longitudinalement et obliquement, c'est pourquoi leur forme est tantôt ronde, tantôt courbé-cylindrique (comme la lettre „S"), tantôt ovale.

Se révèle fortement la *membrana propria* qui forme pour la plupart des plis onduleux, evidemment à la suite de la diminution de la quantité des élements cellulaires renfermés dans les canalicules.

Les espaces intercanaliculaires sont remplis d'un tissu conjonctif fin, fibreux qui renferme de grandes cellules avec des noyaux ronds; la quantité du tissu interstitiel est considérablement supérieure à la norme.

Des cellules semblables forment souvent des bandes continues. Ces bandes dépassent en ce qui concerne leurs dimensions les canalicules. Dans ces espaces intercanaliculaires on voit une quantité de petits points noirs formés, à ce qu'il paraît, par les matières lipoïdes colorées par l'acide osmique. Dans certains espaces intercanaliculaires se trouvent des vaisseaux sanguins entourés du tissu conjonctif.

La *tunica albuginea* n'est pas épaissie; les vaisseaux, à ce qu'il paraît, n'ont pas subi de changements. Il n'y a nulle part d'infiltrations par des cellules rondes.

A un fort grossissement on voit que l'épithélium spécifique fait complètement défaut. De même font complètement défaut les spermatozoïdes.

Les cellules de Sertoli sont assez grandes et adhèrent en forme d'anneau continu à la *membrana propria* en formant la paroi des canalicules. Par endroits la *membrana propria* s'est détachée des cellules de Sertoli. On voit distinctement surtout sur les coupes transversales que le protoplasme des cellules Sertoli se termine par un appendice pointu dirigé vers la lumière du canalicule. Par endroits entre les appendices protoplasmiques des cellules de Sertoli se rencontrent des trous ronds (vacuoles) qui sont comme percés par un poinçon. Se rencontrent aussi des cellules de Sertoli avec des noyaux ayant subi des altérations picnotiques.

La *membrana propria* n'est pas épaissie et forme, ainsi qu'il a été indiqué plus haut, une ligne onduleuse. Par endroits on voit dans cette membrane des longs noyaux plats. La *membrana propria* forme pour la plupart 2 à 3 minces lamelles, dont la lamelle externe passe au tissu conjonctif des espaces intercanaliculaires. Elle contient de longs noyaux courbés. On ne voit à la *membrana propria* nulle part de ruptures (trous) dont parle Plato. Le tissu interstitiel remplit presque complètement

les espaces intercanaliculaires et est composé de fibres de tissu conjonctif avec des noyaux oblongs qui entourent les vaisseaux qui se rencontrent et des grandes cellules polygonales avec un grand noyau rond bien coloré (cellules de Leidig). En outre, ces cellules se rencontrent souvent sous forme de bandes continues. Sur les noyaux de ces cellules, surtout lorsqu'on les observe à l'immersion, on voit de trés petits points colorés en noir par l'acide osmique. On voit aussi une grande quantité de gouttelettes petites et plus grandes, colorées par l'acide osmique, en dehors des cellules, dans le tissu interstitiel. Par endroits ces gouttes couvrent les cellules. Dans le tissu interstitiel se rencontrent des vacuoles. Les vaisseaux, a ce qu'il paraît, n'ont pas subi de changements.

Nous voyons ainsi que dans l'expérience décrite plus haut après l'application d'une dose totale de 137 à 147 x on peut constater 101 jours après la première irradiation et 11 jours après la derniére la destruction complète des elements spermatogènes, des cellules de Sertoli n'ayant pas subi de changements quelque peu prononcés et l'augmentation considérable de la quantité de cellules de Leidig (V. Pl. I, fig. 3).

Procès verbal de l'expérience № 2.

A.

Chien adulte (environ 4 ans), ratier.

Poids: 10 kgr. 4.

Commencement de l'irradiation par les rayons x: 3 avril 1912.

Technique. Durete du tube: 10 à 11 x d'après Wh. Distance de l'onticathode: 18 cm. Force du courant: 1 MA.

3 avril 1912, 1ière séance. Dose: 10 à 11 x.

13 avril. A la surface antérieure du scrotum le poil est tombé en partie; on constate une pigmentation. 2ième séance; dose: 9 à 10 x.

24 avril. 3ième séance. Dose: 12 à 13 x. A la surface antérieure du scrotum une dermatite peu considérable.

1 mai. 4ième séance. Dose: 10 x.

8 mai. 5ième séance. Dose: 10 x.

15 mai. 6ième séance. Dose: 10 x.

A la peau du scrotum une surface humide de grandeur d'un copeque.

23 mai. 7ième séance. Dose: 5 à 6 x.

Le chien se sent tout le temps trés bien, mange volontiers. 1. juin 1912. Le chien a été tué par du chloroforme.

Durant 52 jours le chien a reçu ainsi 7 séances; la dose totale était de 66 à 70 x; l'animal a été tué 60 jours après la première séance et 8 jours après la dernière.

Le poids du testicule gauche est de 4, gr. 2, du testicule droit de 4 gr.

Les testicules sont flasques.

Structure microscopique des testicules.

Sur les préparations on voit, à un faible grossissement, les canalicules coupés dans des directions différentes et formant des lobules

séparées par des couches plus ou moins larges de tissu conjonctif. Dans ce tissu se trouvent les vaisseaux plus grands. Dans les lobules isolés les canalicules sont séparés par du tissu interstitiel, composé de fibres fins de tissu conjonctif renfermant de nombreux cellules avec un noyau bien coloré, vésiculaire (cellules de Leidig). Ici se trouvent aussi les petits vaisseaux sanguins.

La *membrana propria* des canalicules paraît un peu épaissie par rapport à celle des chiens normaux et aussi par rapport à celle décrite dans l'expérience précédente. La *membrana propria* adhère bien aux canalicules ou plus exactement à la chaîne de cellules de soutien et ne se détache nulle part de ces cellules, comme c'était le cas sur les préparations du chien № 1.

Ici, ainsi que dans l'expérience précédente, saute aux yeux la pénurie des canalicules en élements cellulaires. Les canalicules paraissent remplis d'une masse de structure fibreuse, où se rencontrent souvent des espaces vides (vacuoles).

A un fort grossissement, on voit que la *membrana propria* est composée de feuilles concentriques, dont la feuille intérieure forme une ligne ondulée gaufrée, qui adhère bién à la ligne de cellules de soutien, en entrant dans cette dernière par les dents de ses plis. Les feuilles périphériques contiennent des noyaux oblongs et sont séparées par des espaces lymphatiques étroits. La feuille la plus externe passe, à ce qu'il paraît, au tissu interstitiel. Ce tissu, ainsi qu'il a été déjà mentionné, est composé de fibres avec des noyaux oblongs et d'une grande quantité de cellules polygonales assez grandes avec des noyaux vésiculaires bien colorés. On voit ici aussi une grande quantité de gouttes de grandeur différente colorées en noir par l'acide osmique (lipoïdes). De petites gouttes analogues se trouvent, à ce qu'il paraît, aussi dans les cellules de Leidig.

Dans la majorité de canalicules ne se sont conservées que les seules cellules de Sertoli avec leur noyau triangulaire et leur grand nucléole. Les canalicules sont en partie remplis d'un réseau filamenteux, formé par les longues appendices protoplasmiques de ces cellules et d'une quantité de vacuoles. La quantité de cellules de Sertoli paraît par endroits même augmentée et les noyaux forment deux lignes. Les noyaux présentent par endroit des altérations picnotiques. Dans certains canalicules se rencontrent des archispermiocytes avec leur grand noyau rond, pauvre en chromatine et leur grand nucléole et aussi de grands spermatocytes isolés. Les préspermatides, les spermatides et les filaments séminaux font complètement défaut. On ne voit de traces de phénomènes d'inflammation ni dans les canalicules, ni dans le tissu interstitiel; l'infiltration par des cellules rondes fait complètement défaut.

Nous voyons ainsi que dans cette expérience où le chien a reçu dans un intervalle de 60 jours en 7 séances une dose de 70 x et a été tué 7 jours après la dernière irradiation, la spermiogénése fait complètement défaut; pourtant des cellules spermatogènes isolées (archiospermocytes et grands spermatocytes) se rencontrent. Les cellules de Sertoli présente en tout peu de changements; la quantité de cellules de Leidig a considérablement augmenté.

Procès-verbal de l'expérience № 3.

A.

Chien de basse-cour, de pelage brun foncé, 3 à 4 ans. Poids 8, kgr. 6.

Commencement de l'irradiation: 24 avril 1912.

Technique: distance de l'anticathode 18 cm. Tube 10 à 12.

Force du courant: 1 MA.

24 avril: 1ière séance. Dose: 10 x.

27 avril: 2ième séance. Dose: 8 à 9 x.

4 mai: les testicules ont diminué considérablement et sont devenus flasques. 3ième séance. Dose: 12 x.

11 mai: 4ième séance. Dose: 11 x.

18 mai: Dermatite au scrotum. 5ième séance. Dose: 7 à 8 x.

25 mai: Dermatite considérablement plus petite. 6ième séance. Dose: 12 x.

14 juin: La dermatite a disparu complètement et les testicules ont diminué considérablement. 7ième séance. Dose: 16 à 18 x.

28 juin: Il n'y a pas de dermatite. 8ième séance. Dose: 15 x.

Le chien a reçu ainsi 8 séances durant un intervalle de 65 jours; la durée totale de l'irradiation a été de 195 MA. — secondes et la dose totale de 85 à 90 x.

Le chien a été tué par du chloroforme le 9 juillet 1912, c. a. d. 76 jours après la première séance et 11 jours après la dernière. Le poids du corps a été de 9 kgr. 6 c. a d. le poids a augmenté de 1 kgr.

Le chien s'est senti, à ce qu'il paraît, tout le temps très bien. Le poids du testicule gauche a été 4 gr. 5, du testicule droit 5 gr.

Examen macroscopique et microscopique des testicules extirpés sous la narcose.

Testicules flasques; la *tunica albuginea* peut former un pli.

A la section le parenchyme de couleur brun-grisâtre. Parenchyme peu succulent.

Examen microscopique des préparations, fixées en partie dans la liqueur de Flemming, en partie dans du formol et colorées en partie par la safranine et Lichtgrün, en partie par l'hématoxyline et l'éosine et aussi d'après Van-Gison-Weigert.

La *tunica albuginea* est épaissie, pourtant les vaisseaux qui s'y rencontrent n'ont pas subi de changements; il n'y a pas d'infiltration par de petites cellules. Les canalicules sont coupés transversalement, longitudinalement et obliquement. Les espaces lymphatiques péricanalicu-

laires sont étroits. Il faut signaler le développement considérable du tissu interstitiel qui remplit partout les espaces intercanaliculaires. Les canalicules se trouvent en partie en état à demi désagrégé, c'est pourquoi la *membrana propria* forme sur les coupes une ligne ondulée. La *membrana propria* se désagrége en plusieurs lamelles qui donnent sur les coupes l'impression des lignes concentriques fines. La *membrana propria* s'est détachée par endroils des cellules de Sertoli.

Des élements cellulaires ne se sont conservées dans les canalicules que les cellules de Sertoli avec leur noyau qui se colore d'une manière pâle et le nucléolus coloré d'une manière vive. Par endroits la quantité de noyaux dans les cellules de Sertoli est au-dessous de la norme, par endroits elle paraît augmentée.

Parfois on rencontre des bandes continues composées de noyaux de Sertoli. Se rencontrent aussi des noyaux ayant subi des altérations microscopiques. L'origine des ces bandes, il me semble, peut être expliquée de la manière suivante. Si la préparation est coupée accidentellement à la tangente de la paroi du canalicule, on doit obtenir une bande continue de noyaux de Sertoli.

Une partie considérable de la cavité des canalicules est remplie par les appendices des cellules de Sertoli qui forme quelque chose comme un réseau de forme irrégulière. Par endroits on voit entre ces appendices des vacuoles de forme ronde. Les cellules spermatogènes et les spermatozoïdes font complètement defaut.

Le tissu interstitiel est fortement développé. Il remplit partout les espaces intercanaliculaires, ne laissant que des espaces étroits lymphatiques près des canalicules.

Le tissu interstitiel est composé d'une grande quantité de fibres de tissu conjonctif avec des noyaux longitudinaux et d'une quantité de grandes cellules avec des noyaux vésiculaires bien colorés (cellules de Leidig). La quantité de ces cellules est supérieure à la norme.

Dans le tissu interstitiel se rencontre une grande quantité de gouttes de matiéres lipoïdes de différente grandeur colorées en noir par l'acide osmique. De petites gouttes semblables peuvent être constatées aussi dans les cellules de Leidig. A l'intérieur des canalicules il n'y a pas de gouttes pareilles.

Dans le tissu interstitiel se rencontrent aussi des vaisseaux sanguins qui n'ont pas subi, à ce qu'il paraît, de changements.

Il n'y a nulle part d'infiltration par des cellules rondes.

Nous voyons ainsi que dans cette expérience après l'application d'une dose de 90 à 100 x donnée en huit séances il se manifeste 76 jours après la première séance et 11 jours après la dernière séance

la destruction complète de tous les élements spermatogènes et en même temps l'augmentation de la quantité de cellules de Leidig (v. Pl. II, fig. 3 et Pl. I, fig. 5, 6 et 7).

Procès-verbal de l'expérience № 4.

A.

Fox-terrier adulte. Poids 5, kgr. 9.

Commencement de l'irradiation: 1 mai 1912.

Technique: Distance de l'anticathode 18 cm. Dureté du tube: 11 à 11 d'après Wh; force du courant: 1 MA.

1 mai. Première séance: 10 x.

8 mai. 2ième séance. Dose: 9 à 10 x.

15 mai. Les testicules ont diminué et sont devenus flasques. 3ième séance. Dose: 8 x.

22 mai. 4ième séance. Dose: 3 à 5 x.

14 juin. A la peau du scrotum dermatite peu considérable. 5ième séance. Dose: 13 x.

28. juin. 6ième séance. Dose: 12 x. Les testicules ont diminué considérablement, sont flasques.

En tout le chien a reçu en 6 séances 55 à 58 x durant un intervalle de 59 jours.

Le 23 novembre 1912 c. a d. 207 jours après la première séance et 148 jours après la dernière séance le chien a été tué par du chloroforme.

Poids du corps: 6, kgr. 6.

Poids du testicule gauche: 3, gr. 6, du testicule gauche: 3, gr. 4.

Examen anatomo-pathologique.

Testicules flasques. A la section le parenchyme des testicules peu succulent, de couleur brun-jaunâtre.

A un faible grossissement on voit sur les préparations les canalicules seminifères coupés dans diffèrentes directions et ne contenant, à ce qu'il paraît, que des cellules de Sertoli. Outre les bandes de tissu conjonctif qui séparent les lobules isolés de la glande, c'est le tissu interstitiel qui remplit complètement tous les espaces intercanaliculaires. Dans le tissu interstitiel il y a une grande quantité de gouttes (matières lipoïdes) de grandeur différente colorées en noir par l'acide osmique qui fusionnent ensemble. Il y a tant de ces gouttes noires que par endroits elles remplissent tout à fait les espaces intercanaliculaires.

A l'intérieur des canalicules il n'y a pas de matières lipoïdes.

Pourtant en examinant les préparations avec un fort système à immersion, on peut rencontrer dans certains canalicules des petites gouttes isolées de matières lipoïdes. A un tel grossissement on peut aussi établir que les élements spermatogènes font complètement défaut. Les noyaux des cellules de Sertoli se sont bien conservés et leur quantité est probablement supérieure à la norme. Dans le protoplasme des cellules de Sertoli se rencontrent souvent des vacuoles. La *membrana propria* forme des plis onduleux et n'est pas, à ce qu'il paraît, épaissie. Les espaces

lymphatiques péricanaliculaires font complètement défaut. Le tissu interstitiel remplit partout les espaces intercanaliculaires. Il est composé de fibres relativement gros de tissu conjonctif et d'une quantité modérée bien que supérieure à la norme, de grandes cellules de Leidig. Ainsi qu'il a été mentionné, dans le tissu interstitiel il y a une grande quantité de matières lipoïdes.

Les vaisseaux qui se rencontrent, n'ont pas subi, à ce qu'il paraît, de changements.

Nous avons atteint ainsi au cas donné à l'aide d'une dose de 55 à 58 x donnée en 6 séances la destruction complète de tous les élements spermatogènes; 207 jours après la première séance et 148 jours après la dernière séance on ne constate aucun signe de régénération.

Procès verbal № 5.

A.

Chien de basse-cour, âge moyen. Poids: 13, kgr. 300.

Commencement de l'irradiation: 15 octobre 1912.

Technique: dureté du tube 9 à 10 d'après Wh.; distance de l'anticathode: 21 force du courant: 1 MA. Intervalles entre les séances: 7 à 10 jours.

15 octobre 1912. 1ière séance. Dose: 15 à 20 x.

25 octobre. 2ième séance. Dose: 13 x.

3 novembre. Les testicules sont devenus flasques. 3ième séance. Dose: 13 x.

10 novembre. Les testicules ont diminué considérablement et sont devenus encore plus flasques. 4ième séance. Dose: 13 à 14 x.

Le 7 décembre 1912 c. a d. 53 jours après la première irradiation et 28 jours après la dernière irradiation le chien a succombé à une gastro-entérite aigüe. Les testicules et la prostate ont été extirpés et plongés dans les liquides-fixateurs bientôt après la mort. En tout le chien a été irradié 4 fois et a reçu une dose de 52 à 55 x.

Procès verbal de l'examen microscopique.

A un faible grossissement on voit la *tunica albuginea* de l'épaisseur normale. Les canalicules coupés dans différentes directions se trouvent plus près l'un de l'autre que d'ordinaire. Les espaces lymphatiques péricanaliculaires sont un peu plus étroits qu'à la norme.

Le tissu interstitiel est plus abondant que dans des testicules normaux.

Saute aux yeux la grande quantité de gouttes de matières lipoïdes colorées par l'acide osmique, qui se trouvent exclusivement dans le tissu interstitiel: on ne les voit pas à l'intérieur des canalicules.

La *membrana propria* ne sort pas, en ce qui concerne son épaisseur, des limites de la norme. Comme d'ordinaire, elle est composée de plusieurs

feuilles avec des noyaux oblongs. La feuille interne forme une ligne ondulée, rappelant l'intima des vaisseaux.

La *membrana propria* adhère bien partout à la chaîne de cellules de Sertoli.

A un fort grossissement, on voit que les élements cellulaires à l'intérieur des canalicules sont constitués exclusivement par les cellules de Sertoli avec leurs longs appendices protoplasmiques, ce n'est que rarement que l'on rencontre dans des canalicules isolés des spermatocytes isolés presque toujours ayant subi des changements dégénératifs. Les noyaux de Sertoli subissent assez souvent des altérations picnotiques.

Se rencontrent parfois des canalicules, composés d'un anneau formé par la *membrana propria* rempli partout de noyaux de Sertoli; se rencontrent aussi des canalicules coupés longitudinalement, où une partie de la lumière, d'ordinaire considérablement rétrécie ici, est aussi remplie entièrement de cellules de Sertoli. Cela s'explique, je crois, par le fait que dans ces endroits les canalicules sont coupés à la tangente. Le tissu interstitiel intercanaliculaire èst composé de fibres de tissu conjonctif avec des noyaux oblongs et une quantité de cellules de Leidig augmentée d'une manière modérée. Ainsi qu'il a été déjà mentionné, la quantité de gouttes lipoïdes est très grande, et elles se trouvent exclusivement en dehors des canalicules en couvrant dans une mesure considérable les cellules de Leidig. Les vaisseaux sanguins qui se rencontrent n'ont pas subi, à ce qu'il paraît, de changements. On ne voit nulle part de phénomènes inflammatoires, ni d'infiltration par des cellules rondes.

Procès-verbal de l'expérience № 6.

A.

Chien de basse-cour. Adulte (âge moyen).

Poids: 9 kgr. Testicules bien développés, élastiqnes.

Commencement de l'irradiation: 15 octobre 1912.

Technique. Distance de l'anticathode: 21 cm. Force du courant: 1 à 2 MA. Dureté du tube: 9 à 10 Wh.

15 octobre. 1ière séance. Dose: 12 x.

25 octobre. 2ième séance. Dose: 12 à 14 x.

3 novembre. Une partie du poil au scrotum est tombée. Les testicules ont diminué considérablement et sont devenus flasques.

3 novembre. 3ième séance. Dose: 9 x.

10 nov. les testicules sont devenus encore plus flasques. Dermatité peu considérable.

10 novembre. 4ième séance. Dose: 13 à 14 x.

13 novembre. 5ième séance. Dose: 9 à 10 x.

22 décembre. 6ième séance. Dose: 8 x.

20 avril 1913. Testicules petits et flasques. 7ième séance. Dose: 20 x.

12 mai. 8ième seance. Dose: 15 x.

Le chien a reçu ainsi en 8 séances 98 à 100 x.

Le 20 janvier, c. a. d. 462 après la première irradiation et 253 après la dernière irradiation le chien fut tué par du chloroforme. Pendant tout ce temps l'état général du chien, de même que l'état subjectif, est bon.

Examen anatomo-pathologique.

Poids du testicule gauche: 4, gr. 5, du testicule droit: 4, gr. 2. A la section le testicule est de couleur jaunâtre-brunâtre. Parenchyme peu succulent.

A l'examen microscopique, à un faible grossissement on voit sur la préparations les canalicules seminiféres coupés dans différentes directions et ne contenant, à ce qu'il paraît, que des cellules de Sertoli. A la place des cellules spermatogènes on voit une masse fibreuse sans structure. Les espaces lymphatiques près des canalicules font complètement défaut. Le tissu interstitiel qui remplit, par endroits en partie et par endroits complètement les espaces intercanaliculaires, est couvert abondamment de points noirs de grandeur différente (matières lipoïdes colorées par l'acide osmique).

A un fort grossissement on voit que la *membrana propria* des canalicules n'est pas épaissie qu'elle forme parfois des plis onduleux pas grands et qu'elle est composée de plusieurs lamelles (fibres sur les coupes). Sur la *membrana propria* les cellules de Sertoli avec un grand noyau à la base forment une ligne continue. Le protoplasme des cellules de Sertoli forment des longs appendices pointus dirigés vers la lumière des canalicules.

Par endroits se rencontrent des canalicules coupés longitudinalement où leurs parties, ordinairement plus étroites sont remplies de noyaux de Sertoli. Se rencontrent aussi des canalicules coupés transversalement mais à un diamètre plus petit que d'ordinare et une *membrana propria* qui semble présenter un épaississement; ces canalicules sont remplis partout de noyaux de Sertoli.

Ce sont probablement des préparations coupées à la tangente des parois des canalicules.

A la place des cellules spermatogènes on voit une masse filamenteuse sans structure. Il n'y a nulle part de spermatozoïdes. Le tissu interstitiel est composé d'un tissu conjonctif poreux avec des noyaux oblongs et de grandes cellules à un noyau vésiculaire rond. La quantité de cellules du dernier type (cellules de Leidig) est considérablement supérieure à la norme. En outre, il y a encore une grande quantité de gouttes de grandeur différente colorées par l'acide osmique; les plus petites de ces gouttes se trouvent, à ce qu'il paraît, dans les cellules de Leidig.

A l'intérieur des canalicules il n'y a pas du tout de gouttes de matières lipoïdes.

Les vaisseaux que l'on rencontre n'ont pas subi, à ce qu'il paraît, de changements. Les signes d'un processus d'inflammation font complètement défaut.

Procès-verbal de l'expérience № 7.

A.

Ratiér 3 à 4 ans. Testicules bien développés, elastiques.

Poids: 13, kgr. 770.

Commencement de l'irradiation: 17 novembre 1912.

Technique: Distance de l'anticathode: 21 cm. Force du courant: 1,2 Amp. Dureté du tube: 9 Wh.

17 novembre. 1 séance. Dose: 20 x.

24 novembre. Les testicules ont diminué considérablement, le localisateur à un diamètre de 4, cm. 5 qui ne pouvait pas renfermer les testicules avant l'irradiation, les renforme à présent librement.

24 novembre. 2 séance. Dose: 20 x.

1 décembre. 3 séance. Dose: 18 x.

Le chien a reçu ainsi dans un intervalle de deux semaines en trois séances 58 x. Le chien a été tué par du chloroforme le 16 juillet 1913, c. a. d. 242 jours après la première séance et 228 jours après la dernière séance.

Poids: 14 kgr. 500.

Poids du testicule gauche: 7, gr. 4, du testicule droit: 7, gr. 4.

Examen anatomo-pathologique.

Testicules flasques. La *tunica albuginea* peut être soulevée en un pli. A la section testicules sont de couleur jaunâtre-brunâtre, peu succulents.

A l'examen microscopique, à un faible grossissement on voit le développement considérable du tissu interstitiel. Les canalicules ne renferment qu'une couche de cellules de Sertoli; à la place de cellules spermatogènes il y a une masse fibreuse colorée d'une manière uniforme.

La *tunica albuginea* ne présente pas d'épaississement. Le tissu conjonctif forme des couches plus larges entre les lobules isolés du testicule, des bandes longs minces et aussi des masses compactes plus larges entre les canalicules isolés. Les espaces lymphatiques péricanaliculaires sont presque complètement vides. Partout dans le tissu interstitiel il y a une grande quantité de gouttes de grandeur différente colorées en noir par l'acide osmique (matières lipoïdes). Dans le tissu interstitiel se trouvent aussi des vaisseaux.

A un fort grossissement on voit que les cellules spermatogènes; les spermatozoïdes font complètement défaut dans les canalicules. A leur place se trouvent en remplissant les canalicules une masse sans structure.

Les noyaux des cellules de Sertoli sont colorés faiblement et leurs appendices protoplasmiques forment une masse filamenteuse qui remplit les canalicules. Par endroits on voit à la place de cellules de Sertoli des vacuoles. La *membrana propria* forme par endroits une ligne ondulée et se désagrège en plusieurs lamelles isolées (lignes sur la coupes), dont la lame externe contient des noyaux oblongs, plats et passe souvent au tissu interstitiel conjonctif.

Le tissu interstitiel est composé:

1) de fibres de tissu conjonctif avec des noyaux oblongs;

2) d'une grande quantité (considerablement supérieure à la norme) de grandes cellules à noyau vésiculaire (cellules de Leidig);

3) d'une très grande quantité de gouttes colorées par l'acide osmique, accumulée pour la plupart en petits tas et couvrant souvent les autres tissus; de petites gouttes se trouvent dans les cellules mêmes;

4) de vaisseaux sanguins qui font l'impression d'avoir par endroits des épaississements. Des gouttes isolées colorées par l'acide osmique se trouvent aussi, il est vrai très rarement, à l'intérieur des canalicules. Nous avons ainsi atteint dans l'expérience donnée à l'aide d'une dose de 58 x donnée en 3 séances la destruction complète des élements cellulaires spermatogènes et on ne pouvait établir 242 jours après la première séance et 228 jours après la dernière séance aucun signe de régéneration de l'épithélium. La quantité de cellules Leidig a augmenté considérablement.

Procès-verbal de l'expérience № 8.

A.

Chien de basse-cour. Poids: 9, kgr. 100. Testicules de grandeur d'une prune pas grande, elastiques.

Commencement de l'irradiation 13 décembre 1912 Technique. Distance de l'anticathode: 21 à 22 cm. Dureté du tube 9 à 10 d'après Wh. Force du courant: 1 MA.

13 décembre 1912: 1ière séance. Dose: 8 à 9 x. 21 décembre. 2ième séance. Dose: 8 à 9 x.

Le chien a reçu ainsi en 2 séances avec un intervalle d'une semaine 18 à 20 x.

13 juillet 1913. Les testicules sont devenus considérablement plus petites, ils sont flasques. Le chien a été tué par du chloroforme le 13 juillet 1913, c. a. d. 213 jours après la première séance et 205 jours après la deuxième séance.

Poids du testicule gauche: 3, gr. 4. Poids du testicule droit: 3, gr. 3.

Résultat de l'examen anatomo-pathologique.

A la section les testicules sont de couleur grisâtre-brunâtre. Le parenchyme est peu succulent.

A l'examen microscopique à un faible grossissement on peut constater le développement considérable du tissu interstitiel par rapport à la norme. S'y font remarquer des points noirs de grandeur différente (matières lipoïdes colorées par l'acide osmique) et les grands noyaux bien colorés des cellules de Leidig. Les canalicules coupés dans différentes directions sont pour la plupart divisés par des espaces continus de tissu interstitiel. Les espaces lymphatiques péricanaliculaires font presque partout défaut. Les canalicules paraissent presque complètement privés d'élements cellulaires et la plupart de leurs lumières est rempli d'une masse réticulaire, filamenteuse.

A un fort grossissement on voit que le tissu interstitiel est composé: 1) d'une grande quantité de cellules polygonales avec un noyau vésiculaire rond bien coloré (cellules de Leidig); 2) d'une quantité relativement peu considérable de fibres de tissu conjonctif avec des noyaux oblongs; 3) d'une grande quantité de gouttelettes colorées par l'acide osmique, ces gouttelettes se trouvant aussi àl'intérieur des cellules; 4) des vaisseaux n'ayant pas subi, à ce qu'il paraît, de changements, qui n'accompagnent pas toujours les cellules de Leidig.

La *membrana propria* des canalicules n'est pas épaissée, forme parfois une ligne onduleuse; il n'y a nulle part d'intervalles. A la *membrana propria* adhèrent les cellules de Sertoli, dont les noyaux sont faiblement colorés. Parfois à la place des cellules de Sertoli se rencontrent des vacuoles. Le protoplasme des cellules de Sertoli forme des appendices triangulaires tournés par le cône pointu à la lumière des canalicules et remplit les canalicules par une masse onduleuse. Les cellules spermatogènes font complètement défaut; de même certainement les spermatozoïdes. Dans la masse onduleuse décrite plus haut se rencontrent des lumières rondes (vacuoles) de forme régulière.

Des gouttes de matières lipoïdes ne se rencontrent nulle part à l'intérieur des canalicules. L'expérience en question présente un intérêt à ce point de vue que dans ce cas il a été appliqué une dose peu considérable de 18 à 20 x donnée en deux fois et que 213 jours après la première irradiation et 204 après la dernière nous pouvons établir l'absence complète de cellules spermatogènes et d'autre côté, l'augmentation considérable de la quantité de cellules de Leidig.

Les deux expériences suivantes (№ 9 et № 17) présentent un interêt à ce point de vue que j'ai pris deux petits chiens de la même portée, âgés de 4 mois; un petit chien (№ 9) a été irradié tandis que l'autre devait servir de contrôle. J'ai eu l'intention cette fois d'arrêter

à l'aide de la rœntgenisation des testicules leur développement à l'âge jeune et voir comment cet arrêt du développement des testicules agit sur le développement de la prostate.

Procés-verbal de l'expérience № 9.

A.

Croisement d'un Saint-Bernard avec un chien de basse-cour. Mis bas 15 août 1912. Poids: 8 kgr. 500 gr. Testicule de grandeur d'une amande.

Commencement de l'irradiation: 14 décembre 1912.

Technique. Distance de l'anticathode: 18 à 20 cm. Dureté du tube: 9 à 10 d'après Wh. Force du courant: 1 à 2 MA.

14 décembre 1912. 1ière séance. Dose: 8 à 9 x.

3 janvier 1913. 2ième séance. Dose: 10 à 11 x.

16 février 1913. 3ième séance. Dose: 9 x.

4 mars 1913. 4ième séance. Dose 12 à 13 x.

4 avril 1913. Chez le chien les extremités sont gonflées, il marche mal et a engraissé beaucoup. Le chien de contrôle (№ 17) est affecté d'une même maladie des os, mais d'une forme plus faible.

4 avril. 5ième séance. Dose: 8 x.

20 avril. 6ième séance. Dose: 10 x.

12 mai. 7ième séance. Dose: 20 x.

17 juin. 8ième séance. Dose: 26 x.

Le chien a reçu ainsi 103 à 107 x.

La maladie des os a cependant progressé, le chien a cessé de se deplacer et puis de manger.

Le 15 juillet 1913 le chien a succombé à onze mois. Le chien a succombé 214 jours après la première séance et 14 jours après la dernière. Les glandes sexuelles ont été extirpées quelques heures après la mort.

Résultat de l'examen microscopique.

A l'examen à un faible grossissement on peut constater que les dimensions des canalicules sont au dessous de la norme et plus petites que chez le chien de contrôle (№ 17). Les canalicules sont separés par un tissu interstitiel bien développé. Saute aux yeux la grande quantité de gouttelettes de matières lipoïdes colorées en noir par l'acide osmique. Ces gouttelettes se trouvent en grande quantité non seulement dans le tissu interstitiel, mais dans les canalicules mêmes. La répartition de matières lipoïdes dans les canalicules rappelle celle dans les préparations d'un testicule cryptorchide (v. exp. № 12).

A un fort grossissement on voit que presque tous les canalicules ne contiennent que des cellules de Sertoli. Les appendices protoplasmiques de ces cellules forment un réseau filamenteuse dense qui remplit, pour la plupart, toute la lumière des canalicules. Cette masse contient une

quantité de vacuoles. En outre, ainsi qu'il a été déjà mentionné, les canalicules contiennent une quantité de gouttelettes de matières lipoïdes.

A l'examen à l'immersion on peut voir beaucoup de noyaux de Sertoli se divisant par voie amitotique. En général on peut dire que la quantité de noyaux de Sertoli est plutôt augmentée.

Dans des canalicules isolés on peut aussi rencontrer de très grandes cellules périphériques avec un protoplasme clair et un grand noyau rond couvert de petits grains (archispermiocytes).

Se rencontrent aussi des canalicules coupés en partie on entièrement à la tangente. Des canalicules pareils, ainsi qu'il a été déjà dit, sont remplis de noyaux de Sertoli.

La *membrana propria* n'est pas épaissie et adhère partout bien aux cellules de Sertoli.

Le tissu interstitiel est composé de fibres de tissu conjonctif avec des noyaux oblongs et d'une quantité assez grande de cellules de Leidig. A l'examen à l'immersion on voit que ces cellules contiennent beaucoup de petites gouttelettes de matières lipoïdes. Des gouttes pareilles de grandeur différente sont dispersées en grande quantité par grands groupes dans tout le tissu intestitiel.

Les vaisseaux sanguins que l'on rencontre n'ont pas subi, à ce qu'il paraît, de changements. Des signes d'un processus d'inflammation font complètement défaut.

L'expérience donnée montre que grâce à une irradiation intensive du jeune chien durant 7 mois (dose totale 103 à 107 x) on a réussi à arrêter le développement du testicule (petites dimensions des canalicules et de tout le testicule). Cependant les élements spermatogènes ne font pas complètement défaut. En outre, on peut constater ici aussi un fort développement du tissu interstitiel.

Les cellules de Sertoli se trouvent, à ce qu'il paraît, en état florissant (division des noyaux). V. le procès-verbal de l'expérience de contrôle (№ 17).

Procès-verbal de l'expérience № 17.

A.

Petit chien de 4 mois, croissement d'un Saint-Bernard et d'un chien de basse-cour. Le jeune chien est de la même portée que le chien de l'expérience № 9. Ce chien est aussi atteint, de même que le chien de l'expérience № 9, d'une maladie des extremités. Les testicules et la prostate ont été enlevés à ce chien en même temps qu'a l'autre chien le 15 juillet 1913 (à l'âge de 11 mois).

Résultat de l'examen des testicules.

Testicules de grandeur d'une prune (pas grande); à la section ils sont succulents, de couleur gris-rosâtre. A l'examen microscopique, à un faible grossissement on voit des canalicules considérablement plus grands que ceux du chien № 9. Les canalicules sont entourés d'espaces larges lymphatiques.

Le tissu interstitiel est développé d'une manière considérablement plus faible que chez le chien № 9 et est composé d'un tissu conjonctif très tendre avec une quantité assez grande de cellules de Leidig et d'une quantité modérée de gouttes de matières lipoïdes. Les lumières des canalicules sont larges et souvent remplies d'une masse mucilagineuse. A l'intérieur des canalicules se rencontrent aussi en quantité assez grande des gouttes de matières lipoïdes. A l'examen à un fort grossissement, à l'immersion on voit que la *membrana propria* est mince et contient des noyaux longs légèrement courbés. Les cellules de Sertoli sont nombreuses; leurs noyaux sont assez grands et bien colorés. A la périphérie des canalicules se rencontrent des grandes cellules ovales isolées avec un noyaux pauvre en chromatine (archispermiocytes). Une grande partie de cellules spermatogènes est constituée par les spermatogonies, disposées sous forme de 1 ou 2 rangées et aussi par une quantité peu considérable de spermatocytes grands et petits. Les présspermatides, les spermatides et les spernies, font à ce qu'il paraît, complètement défaut.

En général, la quantité d'élements spermatogènes n'est pas considérable par rapport à la quantité de ces élements chez un chien adulte. Des vacuoles ne se rencontrent pas.

Les cellules de Leidig sont assez nombreuses, les noyaux sont grands.

Procès-verbal de l'expérience № 10.

A.

Chien de basse-cour âgé de 2 ans.

Les testicules sont bien développés, élastiques de grandeur d'une prune pas grande.

Poids: 9 kgr.

Commencement de l'irradiation: 15 décembre 1912.

Technique. Distance de l'anticathode: 18 à 21 cm. Dureté du tube: 9 à 11 d'après Wh. Force du courant: 1 à 2 MA.

15 décembre 1912. 1ière séance. Dose: 10 à 11 x.

15 janvier 1913. 2ième séance. Dose: 10 à 12 x.

16 fevrier. Les testicules sont devenus sensiblement flasques. 3ième séance. Dose: 9 à 10 x.

4 mars. 4ième séance. Dose: 18 x.

4 avril. 5ième séance. Dose: 10 x.

20 avril. 6ième séance. Dose: 28 x.
12 mai. 7i m séance. Dose: 30 x.
Le chien a reçu ainsi durant 6 mois en 7 séances 115 à 119 x. Les testicules se sont diminués considérablement. L'état général du chien est resté bon tout le temps.

Le 13 juillet 1913, c. a. d. 212 jours après la première séance et 32 jours après la dernière le chien a été tué par du chloroforme.

Résultat de l'examen anatomo-pathologique des testicules.

Poids du testicule gauche: 3 gr., du testicule droit: 3 gr. A la section les testicules sont de couleur gris-brunâtre. Le parenchyme n'est pas succulent.

A l'examen à un faible grossissement saute aux yeux le développement considérable du tissu interstitiel. Les canalicules sont entourés, pour la plupart, de ce tissu, qui occupe des espaces considérables. Déjà un faible grossissement sautent aux yeux les noyaux bien colorés d'une à grande quantité de cellules de Leidig, par endroits aussi les gouttes de matières lipoïdes colorées par l'acide osmique, qui se rencontrent cependant en quantité peu considérable. La *membrana propria* des canalicules, n'est pas épaissie, elle forme parfois une ligne onduleuse.

A un fort grossissement on voit que les élements cellulaires des canalicules ne sont représentés que par les seules cellules de Sertoli. Les noyaux de ces cellules sont colorés faiblement (surtout si l'on les compare avec les noyaux bien colorés des cellules de Leidig). Leur protoplasme forme les appendices décrits plus haut. Parfois il y a des vacuoles à la place de cellules de Sertoli. A la place de cellules spermatogènes il n'y a qu'une masse filamenteuse rappelant le mucus.

Le tissu interstitiel est constitué par un tissu conjonctif poreux contenant une quantité peu considérable de fibres et embrassant une quantité considérable de grandes cellules polygonales avec un grand noyau vésiculaire bien coloré (cellules de Leidig). En examinant ces cellules à l'immersion on peut voir que leurs noyaux contiennent beaucoup de grains foncés.

Les vaisseaux n'ont pas subi, à ce qu'il paraît, de changements. Il n'y a nulle part d'infiltration par des cellules rondes; en général il n'y a pas de signes d'un processus d'inflammation.

Dans ce cas il faut signaler le développement considérable des cellules de Leidig tant au point de vue qnantitatif, qu'au point de vue qualitatif. La quantité de gouttes de matières lipoïdes n'est pas très considérable.

Procès-verbal de l'expérience № 11.

A.

Chien de basse-cour de 2 à 3 ans. Poids: 7 kgr. 900 gr. Les testicules sont bien développés, elastiques.

Commencement de l'irradiation: 25 février 1913.

Technique. Distance de l'anticathode 18 à 2 cm. Dureté du tube: 9 à 10 d'après Wh. Force du courant: 2 MA.

25 février. 1ière séance. Dose: 16 à 18 x.

27 février. 2ième séance. Dose: 50 à 53 x.

Le chien a reçu ainsi en deux fois en deux jours 66 à 71 x.

9 mars. La peau du scrotum est compacte, œdemateuse; le poil tombe peu. Le chien a été tué par du chloroforme 12 jours après la première séance et 10 jours après la deuxième sèance.

Poids du testicule gauche: 3 gr., du testicule droit: 3 gr.

Résultat de l'examen des testicules.

A la section les testicules sont de couleur grisâtre-jaunâtre; le parenchyme est assez succulent.

A l'examen à un faible grossissement on voit des canalicules coupés dans différentes directions, étroitement serrés les uns contre les autres, séparés souvent par des couches de tissu interstitiel avec des cellules de Leidig à noyaux fortement colorés. Par endroits on voit dans le tissu interstitiel de grands groupes de gouttes de grandeur différente colorées par l'acide osmique (matières lipoïdes). La *membrana propria* adhère étroitement aux cellules de soutien des canalicules. Elle est relativement peu sinuense et est composée, comme d'ordinaire, de plusieurs feuilles.

A un faible grossissement on voit déjà que la quantité de cellules spermatogènes est considérablement inférieure à la norme.

Dans certains canalicules on peut rencontrer une quantité assez grande de gouttes de matières lipoïdes.

A l'examen à l'immersion on voit que les cellules de Sertoli se sont, pour la plupart, bien conservées. Les spermies font complètement défaut. Il y a une quantité assez grande de canalicules, dans lesquels les élements spermatogènes font complètement défaut, ou bien se rencontre une petite quantité d'archispermiocytes qui se sont conservés. Dans une grande quantité de canalicules il y a en quantité peu considérable d'autres espèces de cellules spermatogènes. Il y a relativement peu de spermatogonies et de spermatocytes. On peut rencontrer souvent dans ces cellules des noyaux qui se désagrègent (karyorexis). Se rencontrent dans une quantité relativement grande des spermatides et des prèspermatides. Parmi ces cellules il y a beaucoup de cellules avec des signes

bien prononcés de dégénérescence. Se rencontrent souvent des canalicules où on voit dans le centre de la lumiére beaucoup de débris de chromatine, à ce qu'il paraît, des restes des cellules mortes qui ne se sont pas encore resorbées.

Dans cette préparation on ne voit pas tant de vacuoles dans le tissu interstitiel, ni à l'intérieur des canalicules et parmi les appendices des cellules de Sertoli que dans les autres préparations.

Procès-verbal de l'expérience № 12.

A.

Chien de basse-cour de 3 ans. Poids: 8 kgr. 100 gr.

Dans le scrotum on ne peut palper qu'un testicule de grandeur d'une prune; on n'a pu constater l'autre par les moyens ordinaires.

Commencement de l'irradiation: 27 février 1913.

Technique. Distance de l'anticathode: 20 à 21 cm. Dureté du tube 9 à 10 d'après Wh. Force du courant: 1 à 2 MA.

27 février. 1ière séance. Dose: 29 x.

28 février. 2ième séance. Dose: 21 x.

Le chien a reçu ainsi en deux jours en deux fois 50 x.

Le 9 mars 1913 c. a. d. 10 jours après la première séance et 9 jours après la deuxième le chien a été tué par du chloroforme.

Dans la cavité péritonéale il a été trouvé du côté droit un testicule de grandeur d'un gland.

Le poids du testicule droit cryptochride a été de 2, gr. 4; du testicule gauche irradié de 6, gr. 5.

Examen anatomo-pathologique des testicules.

Le testicule gauche qui se trouvait dans le scrotum est à la section de couleur jaunâtre-rosâtre et succulent. Le testicule droit qui se trouvait dans la cavité peritonéale est de couleur jaunâtre; son parenchyme est peu succulent.

A l'examen du testicule gauche à un faible grossissement on voit que les dimensions des canalicules sont supérieures à la norme et que les canalicules sont, pour la plupart, riches en élements cellulaires. Beaucoup de canalicules sont partout remplis de ces élements, quelques uns ont des lumières assez larges. La *membrana propria* est mince et adhère presque partout aux cellules de soutien des canalicules.

Les espaces intercanaliculaires sont très grands et ne sont remplis qu'en partie d'un tissu conjontif fibreux, poreux, tendre avec une quantité modèrée de cellules de Leidig et de vaisseaux.

A un fort grossissement il paraît que la plupart des canalicules ont une structure tout à fait normale. Les noyaux des cellules de Sertoli ne sont pas nombreux. Dans la masse fibreuse formée par les appendices

protoplasmiques des cellules de Sertoli sont disposées toutes les espèces de cellules spermatogènes: des archispermiocytes avec leurs grands noyaux pauvres en chromatine, des spermatogonies, des préspermatides prêts à transformer en filaments séminaux et enfin beaucoup de spermatozoïdes avec leurs têtes caractéristiques bien colorés en forme de bâtonnets. Pourtant à l'examen à l'immersion on constate presque dans tous les canalicules les effets de l'action des rayons x. Bien qu'il y ait ici partout beaucoup de spermies, la quantité de cellules spermatogènes a diminué pourtant fortement. Cela se rapporte surtout aux spermatogonies, dont il n'est resté que peu. Il y a beaucoup de cellules spermatogènes avec des signes manifestes de dégénerescence, avec des noyaux qui se désagrègent (karyorexis et picnose). Il y a des canalicules dont les lumières contiennent des débris des cellules. Se sont conservés le mieux les préspermatides et les spermies que l'on trouve dans tous les canalicules à l'état normal. Les espaces lymphatiques autour des canalicules sont très larges. Le tissu interstitiel forme des bandes étroites et des appendices plus larges et ne remplit pas complètement les espaces intercanaliculaires. Le tissu interstitiel est composé de fibres de tissu conjonctif très tendres avec des noyaux fusiformes et d'un nombre assez grand de cellules de Leidig. Il y a peu de gouttes de matières lipoïdes colorées par l'acide osmique à l'intérieur, de même qu'en dehors des canalicules. Les vaisseaux n'ont pas subi de changements. Il n'y a pas d'infiltration par des cellules rondes.

Testicule droit.

A un faible grossissement on peut voir que les canalicules sont plus étroits que dans le testicule gauche. Ils sont disposés plus près l'un de l'autré et les espaces intercanaliculaires sont plus remplis de tissu interstitiel. Ce qui saute aux yeux c'est une grande quantité de gouttes noires (colorées par l'acide osmique) rondes de la même grandeur qui se trouvent dans les canalicules mêmes et sont disposées d'une manière régulière: ces gouttes sont disposées parallèlement à la *membrana propria* à la même distance l'une de l'autre, immediatement en dedans des noyaux des cellules de Sertoli dans la direction de la lumière des canulicules. Des gouttes semblables se trouvent aussi plus près du centre, mais elles sont alors disposées sans ordre. Dans les canalicules il n'y a que les cellules de Sertoli avec leurs longs appendices formant un stroma filamenteux à l'intérieur des canalicules. Il n'y a pas du tout de spermatozoïdes.

La *membrana propria* n'est pas épaissie et ne forme pas de plis. Entre les lobules isolés de la glande se trouvent des couches assez larges de tissu conjonctif. Les espaces intercanaliculaires sont remplis de tissu

interstitiel composé de fibres de tissu conjonctif avec leurs noyaux fusiformes et d'une grande quantité (plus grande que dans le testicule gauche) de cellules de Leidig avec de grands noyaux granuleux riches en chromatine.

Il faut faire remarquer que la quantité de gouttelettes colorées par l'acide osmique se trouvant dans le tissu interstitiel est peu considérable par rapport à la quantité se trouvant à l'intérieur des canalicules.

A l'examen à l'immersion on peut constater des noyaux de Sertoli se divisant par voie amitotique. La quantité de noyaux de Sertoli est supérieure à la norme, et les noyaux sont plus grands.

Il n'y a presque pas de vacuoles dans le tissu interstitiel, ni à l'intérieur des canalicules. Les vaisseaux n'ont pas subi, à ce qu'il paraît, de changements.

Procès-verbal de l'expérience № 13.

A.

Chien de basse-cour de 2 à 3 ans. Poids: 6 kgr. 600 gr. Testicules de grandeur d'une prune, élastiques.

Le 2 mars 1913 le chien a reçu en une séance une dose de 60 x. Dureté du tube 11 à 12 d'après Wh. Le 7 mars, c. a. d. 5 jours après le chien a été sacrifié.

Poids du testicule gauche 4, gr. 5, du testicule droit: 4, gr. 2.

Examen anatomo-pathologique des testicules.

A la section les testicules sont succulents, de couleur rosâtre-grisâtre.

A l'examen à un faible grossissement, on voit que les canalicules coupés dans différentes directions sont séparés par des espaces lymphatiques, séparés à leur tour par un tissu conjonctif poreux et tendre. Pourtant on rencontre des canalicules qui ne sont séparés que par la *membrana propria*. Les lobules isolés sont séparés par des bandes plus larges de tissu conjonctif qui entourent aussi les vaisseaux sanguins plus larges. A un faible grossissement on voit déjà que les canalicules sont très riches en élements cellulaires. Les canalicules sont pour la plupart complètement remplis de cellules; dans certains canalicules on voit une lumière étroite contenant, à ce qu'il paraît, des spermatozoïdes. La *membrana propria* n'est pas épaissie; n'est pas épaissie non plus la *tunica albuginea*. A un fort grossissement on peut constater la présence dans le tissu interstitiel d'une quantité peu considérable de cellules de Leidig. Dans la plupart des canalicules on peut voir une grande quantité de toutes les espèces de cellules spermatogènes: des archispermiocytes, des spermatogonies, des préspermatides et des spermatides et aussi une très grande quantité de spermatozoïdes.

Les cellules de Sertoli se trouvent a côté de la *membrana propria* et sont comme serrées par les cellules spermatogènes. Les appendices protoplasmiques des cellules de Sertoli remplissent entièrement les espaces entre les cellules spermatogènes. Pourtant, en examinant une préparation entière à l'immersion on peut voir que les résultats de l'irradiation se sont déjà manifestés sur les cellules d'une quantité considérable de canalicules. Se rencontrent souvent des canalicules, dont les cellules spermatogènes présentent des signes manifestes de dégénérescence (désagrégation du noyau). En même temps on voit des cellules spermatogènes dans tous les stades de mitose. A côté des canalicules, contenant une grande quantité de filaments séminaux, il y a des canalicules où ils font complètement défaut. Les anomalies des figures mitotiques, dont parle Regaud ne se rencontrent pas. Dans les lumières de certains canalicules se rencontrent des débris de noyaux.

Les matières lipoïdes colorées par l'acide osmique se rencontrent en quantité très limitée en dehors des canalicules dans le tissu interstitiel de même qn'à l'interieur des canalicules à la base des cellules de Sertoli.

Procès-verbal de l'expérience № 14.

A.

Chien de basse-cour, environ 3 ans. Poids: 10 kgr.

Commencement de l'irradiation: 7 mars 1913.

Technique. Distance de l'anticathode: 18 à 19 cm. Dureté du tube: 10 à 11 d'après Wh.

7 mars 1913. Première séance. Dose: 15 x.

26 mars. 2ième séance. Dose: 18 x.

Le chien a reçu ainsi en deux séances avec un intervalle de 19 jours une dose de 33 x.

Le 20 juin 1913, c. a. d. 105 jours après la première séance et 86 jours après la deuxième seance le chien a été tué par du chloroforme.

Poids du testicule droit: 3, gr. 9; du testicule gauche: 3, gr. 6.

Résultat de l'examen anatomo-pathologique.

Testicules flasques. A la section de couleur grisâtre-brunâtre.

A l'examen à un faible grossissement on voit des canalicules coupés dans de différentes directions; les espaces lymphatiques péricanaliculaires sont très étroits et, a ce qu'il paraît, font complètement défaut par endroits. Les espaces intercanaliculaires sont entièrement remplis de tissu interstitiel. Les lobules isolés de la glande sont séparés par des couches larges de tissu interstitiel.

A un fort grossissement on voit que les canalicules ne contiennent que des cellules de Sertoli. Leurs appendices protoplasmiques forment un réseau qui remplit presque entièrement les canalicules. Dans ce réseau on voit beaucoup de vacuoles. A l'examen à l'immersion on constate

des noyaux de Sertoli se divisant par voie amitotique. Dans certains canalicules on voit près de la paroi des cellules ovales isolées avec un grand noyau oval, à ce qu'il paraît, des archispermiocytes. D'autres espèces de cellules spermatogènes ne se rencontrent pas; les spermatozoïdes font aussi complètement défaut.

La *membrana propria* n'est pas épaissie et forme parfois des plis onduleux. Le tissu interstitiel est composé de fibres de tissu conjonctif et d'une grande quantité de cellules polygonales avec un noyau vésiculaire, dans lequel on voit des granulations à l'examen à l'immersion. Dans le tissu interstitiel il se rencontre une quantité peu considérable de gouttes de matières lipoïdes colorées par l'acide osmique. A l'interieur des canalicules ces gouttes ne se rencontrent pas. Les vaisseaux n'ont pas subi, à ce qu'il paraît, de changements. Les signes d'un processus d'inflammation font défaut.

Procès-verbal de l'expérience № 15.

A.

Chien de basse-cour, de 5 à 6 ans. Poids: 9 kgr. 620 gr. Testicules de grandeur d'une prune, élastiques.

Commencement de l'irradiation: 7 mars 1913.

Technique. Distance de l'anticathode: 18 à 19 cm. Dureté du tube: 10 à 11 d'après Wh. Force du courant: 2 MA.

7 mars. 1ière seance. Dose: 15 x.

26 mars. 2ième séance. Dose: 14 à 15 x.

Le chien a reçu ainsi en 2 séances avec un intervalle de 3 semaines une dose de 31 à 32 x.

Le 20 juin 1913, c. a. d. 105 jours après la première irradiation et 85 jours après la deuxième irradiation le chien a été tué par du chloroforme.

Poids du testicule gauche: 6, gr. 7, du testicule droit: 6, gr. 4.

Résultat de l'examen anatomo-pathologique.

A la section les testicules sont de couleur gris-jaunâtre, peu succulents.

A l'examen à un faible grossissement on peut voir que les canalicules séminaux sont pauvres en élements cellulaires et qu'au contraire le tissu interstitiel est fortement développé et est riche en cellules.

A un fort grossissement on voit que dans les canalicules ne s'est conservée qu'une série de cellules de Sertoli avec leurs noyaux triangulaires caractéristiques et leurs longs appendices protoplasmiques filamenteux. Entre les appendices il y des trous de forme ronde (vacuoles) qui sont comme percés par un poinçon. A l'examen d'une grande quantité de canalicules on peut parfois constater des cellules isolées très grands qui renferment 2 à 3 noyaux. Se rencontrent parfois aussi des cellules plus petites avec un noyau du type de spermatogonies. Le tissu interstitiel est composé de fibres de tissu conjonctif avec des noyaux fusiformes

et d'une grande quantité de cellules assez grandes de forme polygonale irrégulière avec un noyau vésiculaire (cellules de Leidig). Il y a beau coup de gouttes de grandeur différente colorées par l'acide osmique, dont les plus petites se trouvent, à ce qu'il paraît, dans les cellules mêmes de Leidig.

A l'intérieur des canalicules il n'y a pas de gouttes semblables. Les vaisseaux que l'on rencontre n'ont pas subi, à ce qu'il paraît, de changements.

Procès-verbal de l'expérience № 16.

A.

Chien adulte. Poids: 9 kgr. 200 gr. Testicules bien développés. 9 mars 1913. Le chien a été irradié une fois et a reçu la dose de 18 à 20 x. Dureté du tube: 8 à 9 d'après Wh; distance de l'anticathode: 18 cm.; force du courant: 2 MA. Le 9 juillet 1913, c. a. d. 122 jours après l'irradiation le chien a été tué.

Examen des testicules.

Poids du testicule gauche: 3, gr. 7; du testicule droit: 4 gr. Les testicules sont à la section de couleur gris-rosâtre et assez succulents.

Sur les préparations on voit des canalicules coupés transversalement, longitudinalement, obliquement et à la tangente, séparés par des espaces lymphatiques et un tissu interstitiel poreux.

La *membrana propria* des canalicules n'est pas épaissie et adhère partout étroitement aux cellules de Sertoli sans former de plis.

Il y a beaucoup de canalicules qui ne contiennent que des cellules de Sertoli. Mais à côté de ces canalicules, il y a des canalicules qui contiennent, outre les cellules de Sertoli, des archispermiocytes et des spermatogonies. Il y a aussi un nombre assez grand de canalicules qui contiennent, toutes les générations de cellules spermatogènes, les spermies inclusivement. Il y a beaucoup de mitoses.

Cependant même dans ces canalicules la quantité de cellules spermatogènes est inférieure à la quantité de ces cellules dans les testicules d'un chien normal adulte. Cela se rapporte surtout à la quantité de spermatides et de spermies.

Le tissu interstitiel, ainsi qu'il a été mentionné, est composé d'un tissu conjonctif poreux et d'une quantité assez grande, par rapport à la norme, de cellules de Leidig. En outre, dans le tissu interstitiel il y a une quantité très grande de gouttes de matières lipoïdes de grandeur différente colorées en noir par l'acide osmique. Ces gouttes ne se rencontrent pas à l'intérieur des canalicules.

Nous n'avons pu ainsi au cas donné provoquer l'atrophie complète des élements spermatogènes par une dose de 18 à 20 x. Quatre mois

après l'irradiation nous voyons qu'une partie des canalicules s'est rétablie complètement, dans une partie des canalicules il y a des élements spermatogènes, il est vrai peu nombreux, capables au développement ultérieur.

Enfin, il y a des canalicules qui ne contiennent pas, outre les cellules de Sertoli, d'autres élements cellulaires et ne sont pas capables, par conséquent, au développement ultérieur. Ce sont évidemment des canalicules dans lesquels sous l'influence de l'irradiation tous les archispermocytes et les spermatogonies ont péri.

IV.

Conclusions qui découlent de mes expériences personnelles.

En me basant sur mes expériences personnelles je peux me rallier à l'opinion générale des expérimentateurs cités plus haut suivant laquelle les testicules sont très sensibles à l'action des rayons de Rœntgen.

Pas tous les élements sont sensibles aux rayons. Plus exactement, seulement les cellules spermatogènes, et comme nous le verrons plus bas, les cellules de Sertoli qui sont lésées, à ce qu'il paraît, d'une manière élective par les rayons de Rœntgen. Déjà cinq jours après une seule irradiation intensive (exp. № 3) on peut voir des changements dégénératifs des cellules spermatogènes; ces changements progressent rapidement et atteignent un degré considérable 10 à 12 jours àprès l'irradiation (exp. №№ 11 et 12).

Après des irradiations répétées, un certain temps après la dernière séance les changements dégénératifs peuvent atteindre leux maximum: toutes les cellules spermatogènes peuvent périr (exp. №№ 1, 2, 6, 7 et d'autres). Déjà macroscopiquement, même après un petit nombre d'irradiations, on peut voir que les testicules diminuent, deviennent flasques et en les palpant, on sent comme une fluctuation.

Si l'on peut dire que les rayons de Rœntgen agissent d'une manière élective sur l'épithélium spermatogène des canalicules, on ne peut pas affirmer cependant que tous les élements spermatogènes sont également sensibles aux rayons.

Tous les auteurs sont d'accord que les spermies ne sont pas du tout sensibles ou sont peu sensibles aux rayons de Rœntgen. Je ne peux pas me rallier à cette opinion.

En ce qui concerne les autres élements spermatogènes, je suis d'accord avec Bergonié et Tribondeau et Regaud et Blanc qui affirment que des cellules spermatogènes les spermatogonies et les sper-

matocytes sont les élements les plus sensibles aux rayons. Et en effet, la diminution de la quantité des cellules spermatogènes dans les canalicules sous l'influence de la rœntgenisation se fait sentir avant tout sur les spermatogonies (exp. №№ 11, 12 et 13).

Ne résistent pas à la critique, selon mon opinion, les conclusions de Herxheimer et Hoffmann, qui tout en affirmant que la diminution de la quantité de spermatogonies et de spermatocytes saute aux yeux, par les spéculations citées plus haut arrivent à la conclusion, suivant laquelle „les préspermatides et les spermatides qui sont doués d'une organisation plus élevée" doivent être affecté le plus par l'action des rayons.

Le préjugé, suivant lequel les cellules à d'une organisation plus elevée doivent être affecté les premières par les rayons de Rœntgen, se rencontre aussi chez d'autres auteurs (Simonds). S'il en est ainsi, les spermatozoïdes qui présentent un stade de développement plus élevé que les spermatides devraient être lésés plus facilement que les spermatides. Pourtant tous les auteurs sont unanimes à reconnaître que les spermatozoïdes sont complètement insensibles aux rayons; au moins on n'y constate pas de changements morphologiques sous l'influence des rayons de Rœntgen.

En nous basant sur les faits expérimentaux et sur les observations de la rœntgenothérapie clinique, nous devons affirmer qu'en géneral ce sont les cellules se multipliant rapidement, cellules à un échange de matières vif (Schwarz) qui sont les plus sensibles aux rayons de Rœntgen.

Il n'y a aucun doute que la cellule nerveuse plus differencié est plus difficilement lésée par les rayons de Rœntgen que le leucocyte moins differencié. C'est pourquoi, je crois, il n'y a pas de raisons pour considérer, contrairement aux faits, les préspermatides et les spermatides comme plus sensibles aux rayons qus les spermatogonies.

En ce qui concerne le mécanisme de l'action des rayons, nous avons ici, à ce qu'il paraît, un processus bio-chimique qui conduit à la desagrégation de la cellule, les rayons agissant, manifestement, directement sur les cellules, au cas donné, sur les cellules spermatogènes. L'opinion de Simonds, suivant laquelle ce sont les vaisseaux et les nerfs qui sont lésés directement et que les cellules sont lésées par voie secondaire, n'est pas fondée; pas un seul cas, même lorsque les canalicules étaient fortement lésés, je n'ai pu établir de changements quelque peu sensibles dans les vaisseaux. La plupart des auteurs constatent le même fait. En ce qui concerne les terminaisons des nerfs trophiques, cette hypothèse a été émise par Oudin et Barthelemy, mais ni ces auteurs, ni d'autres et ni Simonds lui-même ne peuvent citer des preuves positives pour appuyer leur theorie.

Il est indubitable que les cellules de Sertoli ne restent pas indifférentes par rapport aux rayons de Rœntgen et qu'elles peuvent être lésées sous l'influence des irradiations intensives.

Mes expériences ne donnent pas de raisons directes pour considérer les cellules de Sertoli comme plus sensibles que les spermatocytes et les spermatides, comme le fait Regaud, mais il existe indubitablement une série de données qui montrent que des changements dégénératifs ont lieu dans les cellules de Sertoli sous l'influence des rayons de Rœntgen. Ainsi les vacuoles se rencontrent très souvent. Parfois les noyaux sont très faiblement colorés, tandis que les noyaux des autres cellules (interstitielles) sont colorés d'une manière intensive. Il y a enfin beaucoup de noyaux ayant subi des changements picnotiques. Au contraire, dans d'autres cas les noyaux de Sertoli sont colorés d'une manière assez intensive) et leur quantité est comme supérieure à celle des testicules normaux non irradiés. Il y a des noyaux se divisant par voie amitotique.

Peut être cela peut servir de preuve indirecte de l'opinion de Regaud qui considère que les cellules de Sertoli sont très sensibles vis-à-vis des rayons au moment de leur activité physiologique (secrétoire et nourricière) et peu sensibles pendant la période de repos.

Je voudrais signaler un fait non constaté encore qui, comme il me semble, pourrait aussi servir de preuve de la supposition, suivant laquelle les cellules de Sertoli sont lésées par les rayons.

On sait que la fonction principale des cellules de Sertoli consiste dans leur activité nourricière par rapport aux cellules spermatogènes, c'est pourquoi on les appelle cellules-nourricières. Suivant Regaud le syncytium nourricier dans le protoplasme duquel se trouvent les cellules spermatogènes a pour fonction l'élaboration des matières nutritives pour ces cellules en se servant du plasme se trouvant près des canalicules. Certaines de ces matières sont absorbées immédiatement par les cellules spermatogènes, d'autres sont formées par des gouttes riches en matières lipoïdes qui présentent le produit de sécrétion des cellules de Sertoli.

Les gouttes de matières lipoïdes qui se rencontrent dans les canalicules présentent ainsi le produit de l'activité sécrétoire des cellules de Sertoli.

Je rappelle les préparations du testicule cryptorchide dans l'expérience № 12 qui n'a pas été irradié (v. pl. II, fig. 1). Nous avons vu que le protoplasme des cellules de Sertoli contient une grande quantité de gouttes de matières lipoïdes qui, vu l'absence des élements spermatogènes, n'ont pas pu être assimilées par ceux-ci.

A l'intérieur des canalicules des gouttes de matières lipoïdes sont signalées en quantités plus ou moins considérables dans les expériences

№№ 9, 11 et 13, c. a. d. aux cas où les testicules ont été peu lésés: dans les expériences 11 et 13 les testicules, parce qu'ils ont été examinés peu de temps après l'irradiation (5 et 10 jours), dans l'expérience № 9 parce que les testicules d'un jeune chien résistent mieux à l'action des rayons que les testicules d'un chien adulte. Dans le procés-verbal de cette expérience il a été noté que les cellules de Sertoli se trouvent dans un état florissant. Pourtant dans les autres expériences où une atrophie sensible des élements spermatogènes a été atteinte, il n'y a pas de gouttes de matières lipoïdes dans les canalicules ou bien elles se trouvent en petite quantité. Ce phénomène, je crois, peut être expliqué par le fait que les cellules de Sertoli sont lésées; si l'on ne peut pas établir partout des changements morphologiques, tout de même leur fonction, leur fonction sécrétoire principale est affectée. Peut-être existe-t-il, en partie, un lien entre la destruction des élements spermatogènes et la lésion de la fonction des cellules de Sertoli qui les nourissent.

Il est intéressant de noter que Bergonié et Tribondeau signalent dans un de leurs travaux (4ième communication de l'année 1905) que quant à la répartition des gouttes de matières lipoïdes dans les canalicules il n'y a pas de différence entre les testicules normaux et les testicules irradiés.

Les mêmes auteurs décrivent dans une communication (janvier 1905) „des îlots formées par des cellules de Sertoli“, „des canalicules qui ont perdu leur lumière et ne sont remplis que par des cellules de Sertoli“. Ils expliquent l'origine des îlots et des canalicules pareils par le fait que les canalicules atrophiés par les rayons s'affaissent et les cellules de Sertoli qui s'y sont conservées adhèrant les unes aux autres forment ces îlots et ces canalicules sans lumière.

On ne peut nullement accepter cette interprétation des tableaux qui nous interessent. Si ces „canalicules remplis exclusivement de cellules de Sertoli“ et qui ont souvent à la section une forme ronde ou ovale, présentaient la suite de l'affaissement ou, plus exactement, de l'enroulement des parois des canalicules, composés de la *membrana propria* et de cellules de Sertoli, comme s'il avait lieu ici un phénomène analogue à celui lorsqu'une feuille de papier se plie en rouleau, nous devrions voir sur la coupe une spirale formée par la *membrana propria* entre les volutes de laquelle se trouveraient les cellules de Sertoli; nous devrions voir des lames de la *membrana propria* à l'intérieur du canalicule. Mais en effet on ne le voit pas.

Dans les procès-verbaux cités plus haut je dècris des canalicules semblables, remplis exclusivement de noyaux de Sertoli, mais il n'y a nulle part entre ces noyaux de couches de la *membrana propria*.

On peut expliquer plus simplement ces figures par le fait qu'il s'agit

de préparations coupées à la tangente de la paroi du canalicule; on obtient alors une figure rappelant bien la coupe d'un canalicule rempli exclusivement de noyaux de Sertoli. Les dimensions de ces canalicules sont un peu inférieures à celles des canalicules normaux, ce qui est d'ailleurs signalé aussi par Bergonié et Tribondeau qui considèrent ce fait comme la suite de l'affaissement des parois. Il est interessant de signaler que sur des préparations des testicules normaux et lésés d'une manière insignifiante il y a aussi des canalicules sans lumière, mais ils contiennent, outre les cellules de Sertoli, encore des cellules spermatogènes isolées appartenant aux cellules qui adhéraient à cette place à la *membrana propria*.

La *membrana propria* n'était tronvée quelque peu épaissie pas une seule fois, ce n'est que dans l'expérience № 2 qu.il y a un certain épaississement. Comme d'ordinaire, elle est composée de plusieurs lames.

Souvent la *membrana propria* forme des plis onduleux, ce que l'on peut sans doute expliquer par cela que le contenu des canalicules est devenu moins volumineux et la *membrana propria* est devenu un peu trop large. Ce phénomène se manifeste d'une manière particulièrement prononcée au cas où l'atrophie des canalicules est considérable. Au contraire, au cas, où l'atrophie n'est pas considérable ou au cas, où des signes de régénération se manifestent déjà, la *membrana propria* forme un anneau qui adhère étroitement à la chaîne de cellules de Sertoli.

Les espaces lymphatiques péricanaliculaires des testicules normaux et des testicules qui ont souffert peu de l'action des rayons de Rœntgen sont ordinairement très larges. Dans toutes mes expériences, où l'irradiation a été suffisamment intensive ou au cas où il s'est écoulé un temps assez long après l'irradiation, les espaces lymphatiques sont très étroits ou font même, pour la plupart, complètement défaut. Par endroits les canalicules sont serrés les uns contre les autres, mais pour la plupart ils sont séparés par des couches de tissu interstitiel.

La lymphe péricanaliculaire contient, suivant l'opinion de Regaud et les autres expérimentateurs, des matières nécessaires pour la nutrition des cellules spermatogènes. Ces matières sont absorbées en partie déjà à l'état tout fait par les cellules de Sertoli, tandis que les matières lipoïdes, suivant Regaud, sont élaborées dans les cellules de Leidig, plasme à l'état dissout et sont régénérées de nouveau dans les cellules de passent dans le Sertoli.

Il est clair ainsi qu'avec la destruction des espaces lymphatiques doit souffrir aussi la fonction „lipoïde" des cellules de Sertoli, ce qui correspond aux observations décrites plus haut.

Parallèlement au développement de l'atrophie des canalicules séminaux et à la destruction des espaces lymphatiques, se développent le tissu

interstitiel ou, plus exactement, les cellules de Leidig. Dans beaucoup de cas on constate non seulement l'augmentation de la quantité de cellules de Leidig (hyperplasie), mais aussi l'augmentation des dimensions des cellules et des noyaux (hypertrophie). Dans certains cas la quantité de cellules de Leidig est si grande, que les canalicules sont entourées de ces cellules de tous les côtés. Dans tous les cas on peut signaler une grande quantité de gouttes de matières lipoïdes. Ces gouttes sont de grandeur différente et se trouvent à l'intérieur des cellules même de Leidig, de même qu'entre ces cellules. La quantité de ces gouttes est dans certains cas (4,5) si grande qu'elles couvrent par endroits complètement les cellules.

Il est important de faire remarquer ici que, à côté d'une si grande quantité de matières lipoïdes dans le tissu interstitiel, à l'intérieur des canalicules les gouttes de matières lipoïdes font complètement défaut ou se rencontrent en quantité insignifiante, ce qui n'a lieu qu'au cas où l'irradiation n'a pas été intensive ou il s'est écoulé peu de temps après l'irradiation.

La production de matières lipoïdes dans les cellules de Leidig n'a pas diminué ainsi en comparaison à la norme, mais a augmenté considérablement. On ne peut l'expliquer que si l'on prend en considération l'augmentation considérable de la quantité de cellules de Leidig. En outre, grâce à la diminution et parfois à la disparition complète des espaces plasmiques péricanaliculaires, les matières lipoïdes n'ont pu se dissoudre dans le plasme et à la suite des troubles dans les fonctions des cellules de Sertoli d'être absorbées par ces cellules. Tout cela suffit pour expliquer l'accumulation considérable des matières lipoïdes dans le tissu interstitiel.

Dans certains cas dans les cellules de Leidig se rencontrent des vacuoles, ce qui permet, à ce qu'il paraît, de conclure qu'à une irradiation assez intensive ces cellules peuvent subir des changements sous l'influence des rayons de Rœntgen. En ce qui concerne les vaisseaux qui se rencontrent dans le tissu interstitiel, il n'ont pas subi, à ce qu'il paraît, de changements.

Il n'y a nulle part de signes d'un processus d'inflammation; pas une seule fois je n'ai constaté d'infiltration par des cellules rondes. Je n'ai pas observé non plus d'hémorragie dans les tissus que Hida et Kuga considèrent comme phénomène caractéristique.

En ce qui concerne l'épididyme je n'ai pas pu y établir de changements quelconques, c'est pourquoi je ne donne pas dans mes procès-verbaux les résultats de son examen microscopique.

En me basant sur mes expériences je peux confirmer qu'à l'aide des rayons de Rœntgen on peut atteindre l'atrophie complète et, à ce

qu'il paraît, définitive de tous les élements spermatogènes. En examinant toutes les préparations des expériences №№ 1, 3, 4, 6, 7, 8 et 10 je n'ai pu trouver pas une seule cellule spermatogène.

Dans ces cas dans les expérience s. №№ 1 et 3 il s'est écoulé 11 jours, dans l'expérience № 10 — 32 jours, dans l'expérience № 4 — 148 jours, dans l'expérience № 6 — 253 jours, dans l'expérience № 7 — 214 jours et dans l'expérience № 8 — 204 jours après la dernière séance.

Nous voyons ainsi que même 8 mois $^1/_2$ après la dernière séance (exp. № 6) il n'y a pas de traces de régéneration, et dans ce cas, me semble-t-il, on peut considérer l'atrophie comme définitive.

Dans d'autres cas (éxp. №№ 2, 5, 14, 15) on pouvait tout de même, après un examen attentif d'une grande quantité de canalicules, trouver des cellules spermatogènes isolées, principalement des archispermiocytes et dans ces cas on peut admettre la possibilité de la régéneration des canalicules grâce aux élements spermatogènes restés intacts.

Dans l'expérience № 16, où après la seule séance il s'est écoulé 122 jours, la régénération s'est faite déjà dans un degré considérable; il y a une quantité assez grande de canalicules qui contiennent, bien qu'en une quantité inférieure à la norme, déjà toutes les espèces de cellules spermatogènes jusqu'aux spermies inclusivement.

Enfin dans l'expérience № 9, où un jeune chien (4 mois) qui n'a pas atteint encore l'âge de puberté a servi d'animal d'expérience, malgré les irradiations nombreuses intensives (en tout 8 séances avec une dose totale de 103 à 107) 28 jours après la dernière séance on a pu trouver encore des élements spermatogènes. Cette expérience confirme pleinement les observations de Regaud et Dubreuil qui affirment que les testicules des animaux jeunes sont considérablement moins sensibles à l'action des rayons de Rœntgen que les testicules des animaux adultes. Ce fait s'accorde bien avec la règle générale citée plus haut, suivant laquelle les cellules actives avec un échange intensif de matières sont plus sensibles à l'action des rayons de Rœntgen que les cellules peu actives.

Je dois pourtant faire remarquer que grâce à une irradiation plus intensive j'ai réussi à retarder le développement des testicules chez le petit chien dans l'expérience № 9 dans un degré plus considérable que Regaud et Dubreuil dans leurs expériences sur des lapins.

DEUXIÈME PARTIE.

L'influence de la rœntgenisation des testicules sur la prostate.

I.

Le lien qui existe entre les testicules et la prostate.

Actuellement on considère comme bien établi le fait que la prostate appartient à l'appareil sexuel et depuis que Fübringer a prouvé que la sécrétion de la prostate est nécessaire pour la vivification des filaments séminaux et pour que ceux-ci deviennent mobiles, est devenu clair le rôle capital que la prostate joue dans l'acte de la fécondation.

La fonction sexuelle de la prostate et surtout son lien avec les testicules est prouvé par le fait qu'avec le réveil des testicules à la fonction sexuelle, avec le commencement de la spermotogénèse, la prostate augmente considérablement de volume et il commence une sécrétion abondante par l'épithélium glandulaire.

Hunter, Owen et Griffits et d'autres ont étudié les organes sexuels des hérissons, des taupes et d'autres animaux hibernants et ont trouvé que pendant l'hiver, lorsque la fonction sexuelle s'éteint temporairement chez ces animaux, la prostate est petite, l'épithélium est peu élevé et les sécrétions sont peu abondantes, tandis qu'au printemps lorsque l'activité sexuelle des testicules s'éveille, la prostate se gonfle, l'épithélium s'élève et les canalicules sont remplis de liquide. Au contraire, l'arrêt du développement des testicules, comme on l'observe à la cryptorchidie bilatélare conduit aussi à l'arrêt du développement de la prostate. Celle-ci reste en retard en ce qui concerne son développement et rapelle la prostate d'un enfant.

Launois (1882) a trouvé que la prostate des animaux domestiques (cheval, âne, boeuf, mouton) castrés — est quatre fois moins grande que la prostate normale; elle est compacte et privée de suc.

Launois explique ce fait par la sclérose atrophique présentant le résultat de la castration. Nous trouvons ainsi chez des animaux castrés des phénomènes complètement analogues à ceux que nous avons vus chez l'homme.

Certains auteurs (Bezançon, Launois) affirment qu'à la cryptorchidie unilatérale ce n'est que sur partie correspondante de la prostate

que se manifeste l'arrêt du développement. Cependant dans le cas de cryptorchidie unilatérale que j'ai eu l'occasion d'observer (v. procès-verbaux A et B de l'expérience № 12) je n'ai pu établir de différence quelque peu sensible entre les deux lobes de la prostate [1]). Au cours des processus pathologiques (syphilis, gonorrhée, tuberculose) qui conduisent à la dégénérescence fibreuse des testicules et de leurs épididymes (*orchitis fibrosa*, *fibrosis testis* etc.) on peut établir un développement régressif de la prostate qui se manifeste par la forte diminution de ses dimensions, l'oblitération des tubes glandulaires et le développement du tissu conjonctif (Launois, Derujinsky etc.).

Le lien entre les testicules et la prostate se manifeste d'une manière bien prononcée chez des personnes ou des animaux qui ont subi l'opération de la castration, surtout losque cette opération a été faite en jeune âge.

Gruber a dècrit encore en 1848 les organes sexuels d'un vieillard de 65 ans castré dans l'enfance et a trouvé que sa prostate était atrophiée dans un degré considérable.

Le même fait a été établi bientôt après par Godard et Bilharz qui ont étudié les organes sexuels des eunuques; ces auteurs ont trouvé que la prostate d'un eunuque ne dépasse pas en ce qui concerne ses dimensions la prostate d'un enfant.

Civiale affirme qu'à la lithotomie d'un vieillard castré dans l'enfance il lui a été impossible de constater la présence de la prostate.

Launois fait une communication analogue.

Pelikan et Guérrate dont le premier surtout s'était occupé beaucoup de l'étude de la secte des castrés, établissent que chez les castrés adultes la prostate est très petite et ne dépasse pas en ce qui concerne sa grandeur la glande d'un enfant.

Nous voyons ainsi que la castration faite dans l'enfance arrête le développement de la prostate, tandis que chez des personnes castrées après la période de puberté la prostate subit une réduction et prend la grandeur d'une glande d'un enfant.

Ce lien entre les testicules et la prostate a suggéré l'idée en 1893 chez Ramm en Norwège et chez White en Amérique de vérifier par voie expérimentale l'influence de la castration sur la prostate et de proposer la castration avec un but curatif à l'hypertrophie de la prostate.

Mais il faut signaler que déjà en 1886 Sinitzyn a fait la castration dans un cas de l'hypertrophie de la prostate et a obtenu des résultats favorables. Cet auteur n'a publié ce cas qu'en 1894.

---

1) Il faut faire remarquer que les lobes latéraux de la prostate du chieu ne sont pas toujours symétriques.

Les travaux de Ramm et de White ont inauguré toute une série de recherches expérimentales et cliniques concernant ce problème. Parmi les auteurs qui se sont occupés de ces questions il y a beaucoup de savants russes.

Ramm a trouvé en 1893 que la prostate des chiens diminue considérablement 1 à 2 mois après la castration. Chez des porcs castrés la prostate est plus petite que chez des porcs normaux.

Kirby (1893) a châtré sur la proposition de White des chiens et a étudié leurs prostates à des intervalles différents; il a constaté que déjà 3 semaines après la castration il se manifeste des changements principalement dans les élements glandulaires, qui subissent l'atrophie complète 2 à 3 mois après l'operation. En même temps s'atrophient les fibres musculaires et se développe le tissu conjonctif. Le poids et le volume de la glande diminuent considérablement.

Kirby a eu recours à la méthode suivante pour juger comment la castration a agi sur le poids de la prostate. Après avoir pésé les prostates d'un certain nombre de chiens normaux tués, il est arrivé à la conclusion que le poids de la prostate d'un chien est égal en moyen à $^1/_{1000}$ de son poids. A l'appréciation des résultats de ses expériences sur la castration Kirby comparait le poids de la prostate avec son poids „normal" ($^1/_{1000}$ du poids du chien).

Vu l'absence d'une meilleure méthode, une série d'auteurs s'est servi de la „méthode" de Kirby. Pourtant il est clair que cette méthode ne peut prétendre même à une exactitude approximative. En effet les constatations de Lesine de même que les données que l'on rencontre dans les procès-verbaux d'autres auteurs montrent que la méthode de Kirby n'est pas sure et que le poids de la prostate dépend principalement de l'âge du chien, le poids augmentant avec l'âge (Lesine, Przevalsky et d'autres). Launois a observé chez des chiens que la prostate a diminué plus que de moitié deux mois après la castration.

Griffits a observé aussi une forte diminution de la prostate chez le chien sous l'influence de la castration. Les changements microscopiques qu'il a trouvés dans une telle glande sont, selon son opinion, complètement analogues à ceux qu'il a observés dans la glande hypertrophiée de l'homme après la castration.

Ces changements consistent, selon Griffits, en ceci qui les cellules glandulaires subissent la dégénérescence graisseuse et les tubes s'affaissent. En même temps a lieu la néoformation du tissu conjonctif et des fibres musculaires. Mais ceux-ci subissent aussi la dégénérescence graisseuse. Le tissu conjonctif formé devient fibreux, ce que donne le tableau de la sclérose de la prostate.

Aux conclusions complètement analogues est arrivé aussi Derujinsky qui a pu établir déjà un mois après la castration une forte diminution de la prostate avec un tableau microscopique de l'atrophie des élements glandulaires et musculaires et du développemet du tissu conjonctif.

Lesine, Przevalsky, Karlovitch et d'autres auteurs arrivent dans leurs expériences aux mêmes résultats: sous l'influence de la castration chez les animaux se produit l'atrophie complète des élements glandulaires et, en partie, des élements musculaires de la prostate avec le développement du tissu conjonctif fibreux, ce qui entraîne, certainement, la diminution du volume et du poids de la glande.

Dans son travail scrupuleux: „Sur l'atrophie de la prostate", Athanassov arrive aussi à la conclusion que la castration conduit à l'atrophie bien prononcée de la prostate, mais que l'atrophie ne peut pas être établie toujours microscopiquement.

Il distingue 3 types de la prostate dont le 1ier: glande compacte renfermée dans une capsule fibreuse (propre à l'homme, au chien, au boeuf et au mouton) change peu après la castration en ce qui concerne son volume; — microscopiquement on peut établir des changements bien accentués des élements glandulaires jusqu'à leur atrophie complète.

Il en suit que c'est par voie microscopique que l'on peut établir le degré de l'atrophie de la prostate (surtout du 1ier type).

Des observations cliniques nombreuses des chirurgiens étrangers et russes ont établi que chez l'homme à hypertrophie de la prostate, après la castration la prostate manifeste des phénomènes d'un développement régressif et se ride.

Cependant l'engouement pour le traitement de l'hypertrophie de la prostate par la castration n'a pas duré longtemps. La mutilation que l'on fait dans ce cas à l'organisme a servi comme raison principale contre cette opération. Il faut ajouter aussi que les malades, malgré leur grand âge, ne se soumettent pas volontiers à cette opération. En outre, on n'obtient pas dans tous les cas de l'hypertrophie de la prostate de bons résultats. C'est ainsi que selon Czerny, les indications pour la castration sont très limitées.

En vue d'éviter la mutilation occasionnée par la castration et de simplifier l'opération, Isnardi a proposé en 1895 la ligature du canal déferent. Pourtant les résultats obtenus dans les expériences sur les animaux, de même que les résultats cliniques du traitement de l'hypertrophie de la prostate ne sont pas toujours constants.

C'est ainsi que certains auteurs (White, Kirby, Legueu, Sackar, Dominiti, Athanasow, Derujinsky, Karlovitch et d'autres) ont constaté l'atrophie de la prostate après la résection du canal

déferent, tandis que d'autres auteurs (Bazy, Escat, Chaillaux) n'ont trouvé après cette opération de changements ni dans les testicules, ni dans la prostate. D'après un certain nombre d'auteurs (Griffits, Casper, Albarran, Przevalsky, Pankratièv, Pavon et d'autres) ont constaté l'atrophie de la prostate après la résection du canal déferent, mais le fait que la prostate ne réagit pas toujours de la même manière à la résection Albarran explique par cela que dans certains cas l'opération entraîne l'atrophie des testicules, tandis que dans d'autres cas les testicules ne subissent pas de changements. Cela dépend de ce que parfois on ne coupe que le canal seul et parfois aussi les tissus environnants (nerfs). C'est aussi l'opinion de Griffits.

Suivant Przevalsky, la cause immédiate de l'atrophie de la prostate se trouve dans les lésions des nerfs de Cooper, que ces lésions soient entraînées par la castration ou par la résection du canal déferent.

Pankratiev qui a vérifié les expériencs de Przevalsky arrive aux mêmes conclusions.

En comparant les données bibliographiques citées plus haut, on peut établir comme fait incontestable le lien direct qui existe entre la prostate et les testicules. Ce lien est prouvé par des faits appartenant au domaine de la tératologie, de la physiologie et de la chirurgie clinique et expérimentale. Il n'y a des divergences qn'en ce qui concerne la cause immédiate qui conduit à l'atrophie de la prostate après la castration et la résection du canal déferent.

C'est ainsi que certains auteurs (Przevalsky, Pankratiev et d'autres) considèrent qu'à la castration toujours et parfois à la résection du canal déferent sont coupés les nerfs de Cooper (nerfs sécrétoires et trophiques de la prostate), ce qui conduit à l'atrophie de la glande.

D'autres auteurs (Guérrat) considèrent la prostate comme une partie des voies excrétrices des glandes séminales, des testicules. L'extirpation ou l'atrophie de ces glandes doit entraîner naturellement l'atrophie des voies excrétrices, au nombre desquels appartient la prostate.

Enfin un troisième groupe d'auteurs (Isnardi, Mac-Ewan, Griffits) considère comme cause de l'hypertrophie de la prostate la sécrétion interne anormale des testicules. Ces auteurs considèrent aussi que la sécrétion interne normale des testicules favorise la croissance physiologique de la prostate. Avec l'enlèvement des testicules cesse leur sécrétion interne, et la prostate s'atrophie.

Ainsi qu'il a été déjà mentionné, ce n'est que durant un temps assez court que l'on a appliqué avec un but curatif la castration et d'autres opérations „sexuelles" à l'hypertrophie de la prostate, la castration présentant une mutilation grave de l'organisme, les autres opérations (résection du canal déferent des nerfs de Cooper, des vaisseaux etc.) ne donnant pas toujours de résultats sûrs.

Toutes ces opérations ont cédé la place à une intervention chirurgicale plus radicale, à l'ablation de la prostate par la vessie, ce qui est devenu considérablement moins dangereux grâce au développemert de la technique chirurgicale.

Pourtant en 1911 Willms, et avant lui Hock, a proposé de nouveau d'agir sur la prostate hypertrophiée par les testicules.

Mais ces auteurs proposent non pas l'intervention chirurgicale, non pas la castration dans le sens propre de ce mot, mais l'atrophie des testicules par l'irradiation par les rayons de Rœntgen.

S'appuyant sur les résultats brillants obtenus par l'irradiation des ovaires au cas des moyomes de l'utérus et se ralliant à l'opinion, selon laquelle dans ces cas sont détruits dans les ovaires les élements qui donnent l'hormon favorisant le développement de la tumeur, Willms suppose que par les rayons de Rœntgen peut être supprimée dans les testicules la production de l'hormon qui favorise le développement de la prostate.

Ainsi qu'il a été indiqué déjà dans l'introduction de ce travail, Willms sans avoir vérifié sa supposition par voie expérimentale, a commencé à traiter par sa méthode l'hypertrophie de la prostate de l'homme.

M'intéressant à ce problème, j'ai essayé, le premier, d'élucider par voie expérimentale l'influence de la rœntgenisation des testicules sur la prostate.

Lorsque les résultats de mon travail ont commencé à se dessiner d'une manière claire et j'en ai fait une courte communication à la Société d'Urologie, dans le numéro de Zeitschrift für Urologische Chirurgie du mois de Mars 1913 a paru le travail de Zindel, qui a commencé ses expériences, à ce qu'il parait, en même temps que moi. Il s'est proposé de résoudre un problème analogue à celui qui se trouve à la base de mon travail, c. a. d. d'élucider par voie expérimentale l'influence de la rœntgenisation des testicules sur la prostate. Zindel a fait ses expériences aussi sur des chiens.

En tout Zindel a fait 5 expériences. Pour empêcher l'irradiation de la prostate, Zindel faisait une opération préalable qui avait pour but de déplacer les testicules dans la direction de l'ombilic. A cet effet il faisait 3 cm. au dessus du scrotum un incision transversale de 3 à 4 cm.; on tirait les deux testicules du scrotum, et on rendait mobiles les testicules et en même temps le cordon spermatique. On faisait passer un fil de soie par la tête de l'épididyme, ensuite on plaçait les testicules à l'aide d'une pince sous la peau du ventre et on les fixait par le même fil. Après cette opération les testicules se trouvaient de deux côtés du bout du penis c. a. d. 8 à 10 centimètres au dessus de leur position habituelle.

Il m'est permis de faire remarquer à cette place que l'opération décrite est non seulement superflue, mais qu'en présence de certaines conditions elle peut vicier complètement l'expérience. Ainsi que je l'ai montré plus haut, chez le chien on peut tirer le scrotum avec les testicules en arrière de telle manière que ceux-ci se trouvent en dehors du corps et on peut, en couvrant la prostate de plomb, les irradier tout à fait isolément. D'autre part la suture que l'on fait passer par l'epididyme, le déplacement des testicules avec la torsion inévitable du cordon peut conduire au processus atrophique dans les testicules.

A l'irradiation Zindel s'est servi de la technique suivante: plusieurs fois durant 5 à 10 minutes à une distance de l'anticathode de 15 à 25 cm. il irradiait par une dose de 12 à 20 (d'après Kienböck). La durée totale de l'irradiation a été de 35 à 75 minutes. Les animaux furent sacrifiés 25 à 68 jours après l'irradiation.

Les expériences de Zindel ont donné les résultats suivants: dans les testicules a lieu souvent un processus de dégénérescence qui ne concerne que les cellules spermatogènes. Les vaisseaux ne subissent pas de changements; on ne voit nulle part d'hémorragies. Les spermatides et les spermatocytes périssent le plus rapidement. Les spermatogonies résistent plus aux rayons (affirmation qui contredit l'opinion de la majorité d'autres auteurs). Les cellules de Sertoli ne subissent pas de changements et peuvent même se développer. La *membrana propria* ne subit pas de changements. Le tissu interstitiel se développe d'une manière modérée, et la quantité de cellules de Leidig augmente. Malgré les changements bien prononcés qui se manifestent dans les testicules, la prostate ne subit pas de changements. Le tissu glandulaire et conjonctif, les vaisseaux etc. n'ont pas changé. Zindel n'a pas observé de signe d'un processus d'inflammation.

Vu les résultats de ses expériences, Zindel réprouve le traitement de l'hypertrophie de la prostate proposé par Willms, d'autant plus que l'analogie que Willms trace entre l'utérus et la prostate ne résiste pas à la critique.

Au cours de la même année 1913 un deuxième travail concernant ce problème a été publié par l'auteur japonais Sasaki de la clinique de Willms. Comme le montre déjà le titre du travail („Sur l'atrophie expérimentale de la prostate provoquée par la rœntgenisation des testicules"), les résultats sont ici tout autres que chez Zindel. Sasaki a fait l'irradiation chez 5 lapins et 4 chiens. Chaque lapin recevait durant 3 à 5 mois 12 à 14 séances, la dose employée ayant été de $^1/_2$ à 1 d'après Sabouraud. Les animaux furent sacrifiés 24 à 32 jours après la dernière irradiation. Chaque chien était irradié 12 à 15 fois durant 1 à 3 mois, recevant chaque fois une dose complète d'après Sabouraud. Les

chiens furent sacrifiés 59 à 74 jours après la dernière séance. La dureté des tubes n'est indiquée nulle part.

Des procès-verbaux très courts des expériences de cet auteur on voit que dans la majorité des cas, malgré les irradiations, à ce qu'il paraît, intensives et nombreuses, on n'a pas réussi à provoquer la destruction complète de tous les élements spermatogènes. En ce qui conqerne la prostate, Sasaki en résumant les résultats de ses expériences affirme qu'il a réussi à prouver macroscopiquement et microscopiquement l'atrophie de la prostate comme effet de la rœntgenisation des testicules. Il affirme que dans 3 cas (lapins) il a obtenu l'atrophie complète de la prostate et dans 4 cas (2 lapins et 2 chiens) une atrophie partielle bien prononcée (überwiegende). Dans les deux autres cas les résultats n'ont pas été aussi prononcées, mais ici aussi se manifestent des signes d'atrophie. Sasaki résume comme suit les résultats des changements histologiques dans les prostates des animaux qu'il a irradiés: „la glande réagit ou bien par l'atrophie complète ou bien par l'atrophie accompagnée de la dégénérescence ou de l'infiltration par des cellules rondes. En général, on pouvait établir des lobules isolés diminués sur toute la coupe. Les tubes glandulaires n'étaient pas si fortement ramifiés et ont pris une forme ovale on plissée. Tandis que l'épithélium normal est composé ordinairement de hautes cellules cylindriques, l'épithélium est ici plus bas et par endroits se rencontrent des cellules épithéliales complètement plates. Le protoplasme des cellules est ridé, et les noyaux sont colorés d'une manière intensive. Le tissu conjonctif interstitiel se développe fortement; au contraire, les fibres musculaires se rencontrent en quantité peu considérable ou disparaissent complètement. Dans les cas les plus prononcés le tissu glandulaire disparaît complètement. Au lieu des tubes glandulaires ne sont restés que des espaces vides. Suivant l'intervalle qui s'écoule entre la dernière irradiation et le jour où l'on sacrifié l'animal, l'atrophie se combine avec la dégénérescence ou l'infiltration par des cellules rondes.“ Selon Sasaki, l'épithélium glandulaire s'atrophie d'abord et les muscles seulement ensuite.

En ce qui concerne les changements dans les testicules, Sasaki signale qu'il n'a pu constater de dégénérescence des cellules interstitielles, car, selon son opinion, les doses qu'il a appliquées n'ont pas été suffisantes pour provoquer des changements aussi graves.

Dans les résultats de ses recherches expérimentales Sasaki voit une confirmation suffisante de l'utilité du traitement proposé par Willms et considere l'irradiation des testicules par les rayons de Rœntgen comme indiquée chez les personnes atteintes de l'hypertrophie de la prostate. Ce traitement est, selon Sasaki, surtout indiqué au cours de la première période de la maladie aux cas où l'on palpe une prostate molle.

En outre, Sasaki propose la rœntgenisation des testicules après l'élimination chirurgicale de la prostate (?) au cas où l'extirpation n'a pas été complète.

Nous voyons ainsi que les auteurs de deux travaux qui ont paru lorsque j'ai commencé déjà mes recherches expérimentales, ont obtenu des résultats différents. Tandis que Zindel n'a pas trouvé de changements dans la prostate après la rœntgenisation des testicules chez des chiens, Sasaki trouve chez des lapins, ainsi que chez des chiens, une atrophie bien prononcée de la prostate jusqu'à la disparition complète du tissu glandulaire. Tandis que Zindel, vu les résultats négatifs qu'il a obtenus, trouve qu'il faut être très prudent en ce qui concerne l'application de la méthode de Willms à l'homme, Sasaki recommande cette méthode. Je me permets de signaler déjà à cette place que les résultats que j'ai obtenus sont diamétralement opposés à ceux de Sasaki et se distinguent en même temps fortement de ceux obtenus par Zindel. Dans les procès verbaux cités ci-dessous de l'examen anatomo-pathologique des prostate des chiens que j'ai irradiés et sur les figures et les microphotographies je donne les changements de la prostate que j'ai réussi à établir.

II.

Expériences personnelles.

A l'appréciation des résultats de mes expériences personelles je ne veux pas considérer comme critérium le changement du volume et du poids de la prostate à la suite de la rœntgenisation des testicules. A cet effet il est nécessaire de connaître le volume et le poids de la glande avant le commencement de l'expérience. Mais il est impossible de déterminer d'une manière quelque peu exacte le volume de la prostate sur un animal vivant. Nous avons vu plus haut que la „méthode" de Kirby, suivant laquelle le poids de la prostate est une grandeur constante égale à $^1/_{1000}$ du poids du chien ne résiste pas à une critique quelque peu sérieuse.

La prostate du chien en ce qui concerne son volume et son poids n'est pas une grandeur constante. Le volume et le poids de la prostate varient avec l'âge et la race du chien; ces grandeurs ne sont pas non plus les mêmes dans une glande à l'état de repos et une glande à l'état d'activité. Ainsi que l'ont montré Lesine et d'autres expérimentateurs, la méthode de Kirby ne peut pas prétendre même à une exactitude approximative. C'est pourquoi je n'ai pris comme critérium dans mes expériences que l'examen microscopique.

Procès-verbal de l'expérience № 1.

B.

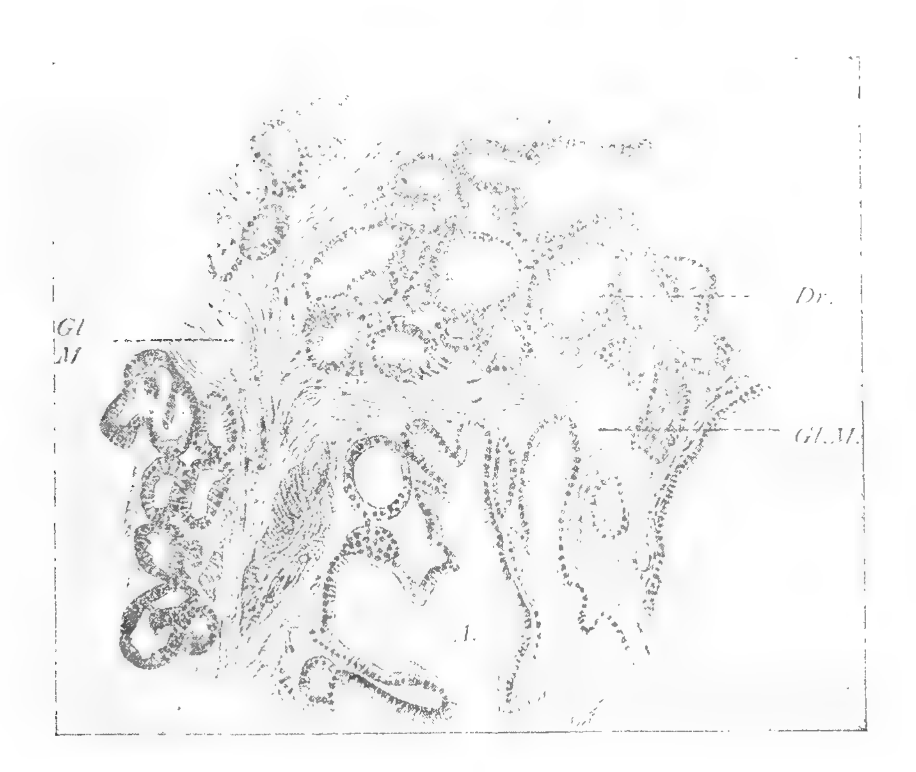
Le chien a reçu une dose de 137 à 147 x et a été sacrifié 101 jours après la première et 11 jours après la dernière irradiation, l'examen microscopique des testicules a montré l'absence complète des élements spermatogènes et l'augmentation de la quantité de cellules de Leidig (v. pl. I, fig. 3).

Macroscopiquement la prostate est bien développée; à la coupe elle est succulente, de couleur gris-jaunâtre.

A l'examen microscopique à un faible grossissement on voit une capsule bien développée composée d'une forte couche de fibres musculaires sous forme de faisceaux. Les faisceaux isolés sont séparés par des couches de tissu conjonctif. De la capsule se dirigent vers le centre de la glande des trabécules composées de fibres musculaires lisses et dans lesquelles de même que dans la capsule se trouvent des vaisseaux. Les trabécules séparent les lobules de la glande composés de tubes glandulaires qui sont étroitement serrés les uns contre les autres. Dans les trabécules commencent aussi les cloisons minces de tissu conjonctif qui séparent les tubes glandulaires et qui contiennent des fibres musculaires lisses. Vers le centre de la glande (vers l'urètre) les trabécules deviennent plus épaisses de même que les cloisons entre les tubes glandulaires en formant un réseau bien développé de tissu conjonctif avec des fibres musculaires lisses. En général, le tissu glandulaire est très développé, surtout à la périphérie de l'organe. Ici, même à un faible grossissement le tissu fait l'impression d'un adénome. Les tubes glandulaires sont ici étroitement serrés les uns contre les autres. Ils sont fortement ramifiés, en formant des cavités de forme irrégulière. Grâce à l'épithélium développé, les parois des tubes glandulaires forment une quantité de plis festonnés. Dans beaucoup de tubes glandulaires on voit la sécretion.

A un fort grossissement on voit que l'épithélium glandulaire est composé de cellules cylindriques élevées avec un noyau à la base. Ces cellules adhèrent étroitement les unes aux autres de telle manière que par endroits les noyaux se trouvent l'un au dessus de l'autre en formant deux rangées et plus. Il y a aussi des cellules isolées se divisant par voie mitotique. Vers le centre de la glande les tubes deviennent moins ramifiés, présentant souvent sur la coupe une figure ronde ou ovale. L'épithélium est ici un peu moins élevé (commencement de voies excrétrices). Il n'y a pas d'infiltration par des cellules rondes. Les vaisseaux n'ont pas subi, à ce qu'il paraît, de changements.

Dans cette expérience nous pouvons ainsi établir que chez un chien, chez lequel les cellules spermatogènes ont disparu complètement sous l'influence de la rœntgenisation, la prostate non seulement ne s'est pas atrophiée, mais se trouve dans un état florissant. Les élements glandu-



Coupe d'une prostate normal de chien (d'après Düsselhorst). Grossissement de 90 : 1. *A.* — canaux déferents. *Dr.* — tubes glandulaires. *Gl. M.* — muscles lisses.

laires sont ici même mieux développés que chez un chien avec des testicules complètement normaux. Nous pouvons nous en convaincre en comparant la figure № 2 sur la planche colorée I avec la figure № 4 sur la même planche. A titre de comparaison nous donnons aussi dans le texte la préparation microscopique de la prostate d'un chien normal que nous avons empruntée au traité d'Oppel „Vergleichende Microscopische Anatomie der Wirbeltiere" (4ième partie, par Düsselhorst Jena, 1904, p. 359).

Procès-verbal de l'expérience № 2.

B.

Le chien a reçu au cours d'un intervalle de 60 jours en 7 séances 70 x. Il a été tué 7 jours après la dérnière irradiation. Dans les canalicules ne sont restées que des cellules spermatogènes isolées. Quantité augmentée de cellules de Leidig.

Résultat de l'examen de la prostate.

A la coupe la prostate est de couleur gris-blanchâtre, pas trop succulente. A l'examen à un faible grossissement on voit que la capsule de la glande est bien développée et est composée de faisceaux musculaires volumineux séparés par des couches minces de tissu conjonctif. De la capsule au centre vont des trabécules d'une structure analogue qui divisent en lobules les parties glandulaires; ces trabecules renferment,

à ce qu'il paraît, des vaisseaux n'yant pas subi de changements. A la direction vers l'urétre les trabécules deviennent de nouveau plus épaisses, s'entrelacent et forment un réseau renfermant des tubes glandulaires isolés. La quantité des élements glandulaires est très grande dans les parties périphériques de la glande, où les tubes sont étroitement serrés les uns contre les autres en formant des masses continues. Ainsi qu'il a été déjà mentionné, autour de l'urètre la quantité de tissu conjonctif et musculaire est considérablement plus grande. A l'examen à un fort grossissement on peut voir que dans les parties périphériques les tubes glandulaires sont fortement ramifiés et forment une quantité de plis festonnés grâce à l'épithélium fortement développé. L'épithélium est ici élevé et les noyaux ronds se trouvent à la base. Beaucoup de tubes renferment du liquide. Les tubes isolés sont séparés par des couches minces de tissu conjonctif contenant des fibres isolés de muscles lisses. Les tubes se trouvant plus près du centre sont moins ramifiés, leur épithélium n'est pas si élevé. Ici ils sont entourés pour la plupart d'un tissu conjonctif fortement développé contenant des fibres de muscles lisses. Dans cette même partie de la glande on peut voir les canaux excréteurs avec leur épithélium cubique à couches nombreuses. Parmi les cellules de l'épithélium glandulaire se rencontrent des cellules se divisant par voie mitotique.

Nous avons ainsi aussi dans ce cas une prostate avec un réseau bien développé de tubes glandulaires, surtout dans ses parties périphériques, où les mitoses qui se rencontrent témoignent du développement continuel de l'épithélium.

Procès-verbal de l'expérience № 3.

B.

Le chien a reçu durant 65 jours en 8 séances environ 90 x et a été tué 11 jours après la dernière irradiation. Dans les testicules atrophie complète de tous les élements spermatogènes et développement considérable des cellules de Leidig.

Macroscopiquement la prostate se présente bien développée, à la coupe elle est de couleur gris-rosâtre, succulente. Sur les coupes faites presque à travers tout l'organe et colorées d'après Van-Gison-Weigert, on voit à un faible grossissement une capsule fortement développée, composée de fortes couches de muscles lisses avec des couches de tissu conjonctif relativement faibles. De la capsule se dirigent au centre de la glande des trabécules fortement ramifiées d'une structure analogue. Les trabécules renferment des vaisseaux qui n'ont pas subi, à ce qu'il paraît, de changements et séparent l'une de l'autre des très grandes portions consistant exclusivement de tissu glandulaire. Ces portions sont composées de tubes glandulaires fortement ramifiés serrés

étroitement les uns contre les autres et qui sont par endroits complètement remplis de sécrétion. Par ces portions passent, en les divisant en parties plus petites, des cordons plus ou moins minces composés de fibres de muscles lisses et de tissu conjonctif. A l'examen des préparations à l'immersion on voit que les tubes glandulaires sont fortement ramifiés, grâce au développement extraordinairement fort de l'épithélium glandulaire qui forme une quantité de plis festonnés entrant dans la cavité des tubes glandulaires. Les cellules épithéliales sont très élevées et sont situées les unes au dessus des autres de telle manière que par endroits l'épithélium paraît être composé de plusieurs couches. Se fait remarquer aussi une très grande quantité de mitoses. Il n'y a nulle part d'infiltration par des cellules rondes.

Nous trouvons ainsi au cas donné chez un chien, chez lequel on a atteint par la rœntgenisation la destruction complète de tous les élements spermatogènes dans les testicules, une prostate non seulement pas atrophiée, mais une prostate qui se trouve incontestablement dans un état d'hyperplasie (mitoses), pour ne pas dire d'hypertrophie (v. Pl. I, fig. 5, 6, 7 et Pl. II, fig. 3 et 4).

Procès-verbal de l'expérience № 4.

B.

Ce chien a reçu durant 59 jours en 6 séances 55 à 58 x. 148 jours après la dernière irradiation les élements spermatogènes font complètement défaut. Quantité augmentée de cellules de Leidig.

Examen anatomo-pathologique de la prostate.

A la coupe la prostate est de couleur gris-rosâtre, très succulente.

A l'éxamen à un faible grossissement on constate un fort développement des muscles lisses qui entourent avec le tissu conjonctif de grands îlots de parenchyme glandulaire. Celui-ci est composé de tubes larges, bien développés, fortement ramifiés regorgeant, pour la plupart, de sécrétion.

A un fort grossissement on voit que l'épithélium glandulaire est très élevé. Les cellules sont disposées les unes au dessus des autres de telle manière que leurs noyaux forment plusieurs rangées et l'épithélium paraît être composé de plusieurs couches. L'épithélium bien développé formant des plis festonnés, rappelant des grappes de raisin, entre de tous les côtés dans la lumière des tubes. Certaines cellules renferment de très petites gouttelettes noires (matières lipoïdes). Rarement on voit des mitoses. Les vaisseaux n'ont pas subi de changements. Il n'y a pas d'infiltration par des cellules rondes.

Nous trouvons ainsi chez un chien, chez lequel nous avons constaté 5 mois après la dernière irradiation une atrophie complète des élements spermatogènes, une prostate bien développée fonctionnant, à ce qu'il paraît, bien (sécrétion abondante).

Procès-verbal de l'expérience № 5.

B.

Le chien a reçu durant un intervalle de 28 jours en 4 séances une dose de 52 à 55; il a succombé 28 jours après la dernière irradiation à une gastroentérite aigüe

Examen anatomo-pathologique de la prostate.

A la coupe la prostate est de couleur gris-blanchâtre. A l'examen microscopique saute aux yeux le développemeut considérable du tissu musculaire. Le parenchyme glandulaire occupe aussi une place considérable, surtout dans les parties périphériques, où les tubes glandulaires sont fortement développés, serrés étroitement les uns contre les autres et leur épithélium forme des plis festonnés. Plus près du centre (de l'urètre) les tubes glandulaires se trouvent parmi le tissu conjonctif et musculaires; ils sont ici peu ramifiés et leur épithélium n'est pas élevé. Des matériaux morts ayant servi pour ces préparations, il était impossible d'étudier la structure fine des cellules.

Procès-verbal de l'expérience № 6.

B.

Le chien № 6 a reçu durant un intervalle de 7 mois en 8 séances une dose de 100 x, il a été tué 462 jours après la première séance et 253 jours après la dernière; dans les testicules les cellules spermatogènes font complètement défaut. Quantité de cellules de Leidig considérablement augmentée.

Examen anatomo-pathologique de la prostate.

Prostate bien développée; a la coupe de couleur gris-rosâtre, succulente.

A l'examen à un faible grossissement saute aux yeux une grande quantité de parenchyme glandulaire, tandis que la quantité de tissu musculaire et conjonctif est peu considérable. Les tubes glandulaires se trouvent les uns près des autres et ne sont séparés que par des feuillettes minces de tissu conjonctif formant la *membrana propria* des tubes. En outre, des couches plus larges de muscles lisses et de tissu conjonctif sous forme de trabécules séparent les lobules isolés de la glande. Les tubes mêmes sont très larges et fortement ramifiés, grâce à une multitude de plis festonnés formés, par l'épithélium bien développé. Les tubes sont remplis, pour la plupart, de sécrétion.

A l'examen à l'immersion on voit que l'épithélium glandulaire est très développé et les cellules se trouvent les une au-dessus des autres de telle manière que les plis festonnés mentionnés plus haut qui entrent dans la lumière des tubes rappellent des grappes de raisin et l'épithélium paraît par endroits être composé de plusieurs couches. On trouve en grande quantité des cellules se divisant par voie mitotique. Les vaisseaux n'ont pas subi, à ce qu'il paraît, de changements. Il n'y a pas d'infiltration par des cellules rondes (v. pl. II, fig. 5 et 6). Ici aussi, en dépit de l'atrophie complète et, à ce qu'il paraît, définitive de l'épithélium spécifique des tubes des testicules 15 mois après la première séance et presque 9 mois après la dernière séance, nous trouvons une prostate avec un parenchyme bien développé, des cellules se divisant par voie mitotique et des tubes glandulaires remplis en abondance de sécrétion.

Procès-verbal de l'expérience № 7.

B.

Le chien a reçu durant un intervalle d'un mois en 3 séances une dose de 58 x et a été tué 211 jours après la dernière irradiation; les cellules spermatogènes dans les testicules ont été détruites. Cellules de Leidig sont fortement développées.

Examen anatomo-pathologique de la prostate.

Prostate bien développée, à le section de couleur gris-jaunâtre. A l'examen à un faible grossissement on voit que le parenchyme glandulaire est fortement développé. Les tubes glandulaires se trouvent les uns très près des autres et ne sont séparés que par une *membrana propria* mince. Les tubes sont fortement ramifiés grâce aux plis festonnés de l'épithélium sous forme de langues qui entrent dans les lumières des tubes. A un fort grossissement on voit que les cellules épithéliales sont très élevées; les noyaux se trouvent à la base des cellules. Les tubes sont remplis, pour la plupart, de sécrétion. Les vaisseaux n'ont pas subi de changements; il n'y a pas d'infiltration par des cellules rondes.

Dans ce cas aussi nous trouvons, à côté de la destruction complète de l'épithélium spermatogène des canalicules des testicules et le développement fort des cellules de Leidig, un parenchyme glandulaire bien développé de la prostate et des tubes remplis de sécrétion.

Procès-verbal de l'expérience № 8.

B.

Le chien a reçu durant un intervalle d'une semaine en deux fois une dose de 18 à 20 x. et a été tué 204 jours après la dernière irradiation; dans les testicules les élements spermatogènes font complètement défaut; quantité considérablement augmentée de cellules de Leidig.

Examen anatomo-pathologique de la prostate.

La prostate est très bien développée; à la coupe elle est de couleur gris-rosâtre et succulente.

A l'examen microscopique à un faible grossissement saute aux yeux la grande quantité de tissu glandulaire. Les tubes glandulaires sont étroitement serrés les uns contre les autres et ne sont séparés que par une *membrana propria* mince. Leur épithélium est, à ce qu'il paraît, très élevé, les lumières sont larges et sont remplis de sécrétion.

A un fort grossissement on voit que l'épithélium glandulaire est très élevé. Ses noyaux se trouvent à la base des cellules. Les cellules sont étroitement serrées les unes contre les autres. Il y a une grande quantité de mitoses à des stades différents. Les vaisseaux n'ont pas subi de changements. Il n'y a nulle part d'infiltration par des cellules rondes.

Nous trouvons ainsi, à côté de l'atrophie complète des élements spermatogènes des testicules et d'un fort développement des cellules de Leidig, 204 jours après la dernière irradiation une prostate avec un parenchyme glandulaire bien développé avec une grande quantité de cellules se divisant par voie mitotique et des tubes régorgeant de sécrétion.

Procès-verbal № 9.

B.

Jeune chien de 4 mois qui a reçu durant un intervalle de 6 mois en 8 séances 103 à 107 x, il a succombé 28 jours après la dernière séance. Il a été constaté un arrêt du développement des testicules, dont les canalicules contenaient pourtant des élements spermatogènes.

Examen anatomo-pathologique de la prostate.

La prostate a été enlevée quelques heures après la mort de l'animal. Elle est assez compacte, à la coupe elle est couleur gris-jaunâtre, peu succulente.

A l'examen à un faible grossissement, on constate le développement considérable du parenchyme glandulaire. Le tissu musculaire et conjonctif se trouve en grande quantité plus près du centre autour de l'urètre, en outre, sous forme de trabécules qui vont de la capsule au centre de la glande et divisent le parenchyme en lobules isolés. Les lumières des tubes sont assez larges, mais en comparaison à l'expérience de contrôle (№ 17) peu ramifiées. En outre, déjà à un faible grossissement on voit que la *membrana propria* des tubes est plus épaisse que dans l'expérience de contrôle. A un fort grossissement on voit que les tubes sont séparés les uns des autres par des couches assez larges de tissu conjonctif. L'épithélium glandulaire est très bas. Il y a beaucoup de noyaux ayant subi des altérations picnotiques. Les noyaux de l'épithélium glandulaire

présentent un tableau bigarré, car l'intensité de leur coloration est assez variée. Dans les lumières de beaucoup de tubes on peut rencontrer la desaggrégation des cellules. Il y a des lumières larges, rondes, remplis de sécrétion et tapissés d'un épithélium plat (canaux excréteurs). Il n'y a pas de mitoses. Les vaisseaux n'ont pas subi, à ce qu'il paraît, de changements, il n'y a pas d'infiltration par des cellules rondes.

Certains caractères (absence de mitoses, changements dans les noyaux) pouvaient être d'origine post mortale, car la prostate a été enlevée quelques heures après la mort de l'animal, nous avons cependant au cas donné incontestablement des signes de l'arrêt du développement de la prostate (épithélium bas, développement du tissu conjonctif entre les tubes) (v. le procès-verbal suivant № 17).

Procès-verbal de l'expérience № 17.

B.

Jeune chien de la même portée que le précédent, n'a pas été irradié. Testicules à l'état de préspermatogénése.

Examen de la prostate.

Glande bien développée, à la coupe de couleur gris-rosâtre, assez succulente.

A l'examen à un faible grossissement on voit que le parenchyme glandulaire est fortement développé. Les tubes glandulaires sont assez fortement ramifiés et beaucoup d'entre eux sont remplis de sécrétion. Les couches de tissu conjonctif qui se trouvent entre les tubes et forment la *membrana propria* des tubes sont plus minces que chez le jeune chien № 9. Le tissu musculaire est aussi plus fortement développé. A un fort grossissement, on voit que l'épithélium glandulaire est assez élevé, considérablement plus élevé que dans l'expérience précédente. Les noyaux sont colorés d'une manière uniforme. On rencontre souvent des mitoses.

Procès-verbal № 10.

B.

Ce chien a reçu durant un intervalle de 6 mois en 7 séances une dose de 115 à 119 x et a été tué 212 jours après la première séance et 32 jours après la dernière. Dans les testicules les élements spermatogènes font complètement défaut, il y a un développement considérable des cellules de Leidig.

Examen anatomo-pathologique de la prostate.

A la coupe la prostate est de couleur grisâtre-rosâtre, succulente.

A l'examen à un faible grossissement on voit un développement considérable des élements glandulaires, surtout à la périphérie de l'organe.

La *membrana propria* des tubes glandulaires est mince: les tubes sont étroitement serrés les uns contre les autres et sont séparés par endroits par la *membrana propria* seule, par endroits par des couches plus larges de tissu conjonctif avec des fibres musculaires lisses. Les lumières des tubes sont larges, des plis de l'épithélium entrent dans les lumières. La plupart des tubes sont remplis de sécrétion et certains tubes sont même fortement dilatés par la sécrétion. La sécrétion remplit aussi les espaces tapissés par l'épithélium plat.

A un fort grossissement on voit que l'épithélium glandulaire est élevé; les noyaux se trouvent à la base des cellules. Les cellules sont étroitement serrées les unes contre les autres de telle manière que par endroits l'épithélium semble être composé de plusieurs couches. Il y a des mitoses.

Procès-verbal № 11.

B.

Le chien a reçu en deux jours en deux fois une dose de 66 à 71 x, il a été tué 10 jours après la dernière séance.

Examen anatomo-pathologique de la prostate.

La prostate est petite, à la coupe de couleur grise, succulente d'une manière modérée.

A l'examen à un faible grossissement saute aux yeux le développement considérable du tissu conjonctif et des fibres musculaires lisses. Les tubes glandulaires sont étroits, très peu ramifiés et ne forment presque pas de plis festonnés. Ils sont entourés de tissu conjonctif qui contient aussi des fibres musculaires lisses. A un fort grossissement on voit que l'épithélium des tubes est peu élevé; la bordure du protoplasme cellulaire entre à peine dans la lumière des tubes, entournt le noyau. Les noyaux se trouvent très près les uns des autres. Dans beaucoup de tubes on voit la sécrétion. Dans la partie centrale de la glande il y a des lumières tapissées d'une couche d'épithélium peu élevé et remplies complètement de sécrétion. Ces lumières sont de forme ronde ou ovale et sont serrées les unes contre les autres. Il n'y a pas de mitoses. Les vaisseaux n'ont pas subi de changements. Il n'y a pas d'infiltration par des cellules rondes. A l'examen microscopiques des testicules il a été établi un processus de dégénérescence bien prononcé dans les canalicules seminifères.

Procès-verbal de l'expérience № 12.

B.

Chez ce chien un testicule se trouvait dans la cavité péritonéale. Le testicule qui se trouvait dans le scrotum a reçu en deux séances (deux jours) une dose de 50 x.

Neuf jours après le chien a été tué. Le testicule cryptorchide est caractérisé par l'aspermatogénèse; dans le testicule qui a été irradiè on a constaté le commencement d'un processus de dégénérescence.

Examen anatomo-pathologique de la prostate.

La prostate n'est pas grande, mais symétrique. A la coupe elle est de couleur gris-jaunâtre, assez succulente.

A l'examen à un faible grossissement on voit que le tissu musculaire, de même que le tissu glandulaire sont bien développés. Le tissu musculaire avec des couches de tissu conjonctif se dirige sous forme de trabécules larges de la capsule au centre, en divisant le parenchyme glandulaire en lobules isolés, et forme là en s'unissant des couches plus ou moins considérables. Les tubes glandulaires sont serrés les uns contre les autres. A un fort grossissement, on voit que leur épithélium est assez élevé et qu'il forme, surtout dans les parties périphériques, beaucoup de plis festonnés. Les tubes ne contiennent pas de sécrétion. On constate des mitoses dans les cellules épithéliales. Par endroits on voit des infiltrations assez considérables par des cellules rondes.

Procès-verbal de l'expérience № 13.

B.

Le chien a reçu en une séance 60 x. et a été tué 5 jours après l'irradiation. Il a été constaté dans les testicules le commencement d'un processus de dégénérescence des élements spermatogènes. Quantité de cellules augmentée d'une manière peu considérable.

Examen anatomo-pathologique de la prostate.

La prostate est bien développée; à la coupe elle est de couleur gris-jaunâtre, succulente.

A l'examen microscopique on voit que le tissu glandulaire, ainsi que le tissu musculaire, est bien développé. Les tubes glandulaires sont fortement ramifiés et, pour la plupart, remplis de sécrétion. Les tubes sont étroitement serrés les uns contre les autres et ne sont séparés, pour la plupart, l'un de l'autre que par une *membrana propria* mince. Les lobules de la glande sont séparés par des couches plus ou moins larges de fibres musculaires lisses et de tissu conjonctif. Par endroits on voit des couches puissantes de muscles lisses dont les faisceaux isolés sont séparés par des couches de tissu conjonctif. A un fort grossissement, on voit que l'épithélium glandulaire est élevé, les cellules sont étroitement serrées les unes contre les autres en formant des plis qui entrent sous forme de langues dans les lumières des tubes. On ne voit nulle part d'infiltration par des cellules rondes.

Procès-verbal de l'expérience № 14.

B.

Le chien a reçu en 2 séances à un intervalle de 19 jours une dose de 33 x et a été tué 86 jours après la dernière séance. Dans les testicules les élements spermatogènes (outre les archispermiocytes) font complètement défaut, développement modéré des cellules de Leidig.

Examen anatomo-pathologique de la prostate.

La prostate est petite, compacte. A la coupe elle est de couleur gris-blanchâtre, peu succulente.

A l'examen microscopique on constate un développement extraordinairement fort du tissu conjonctif qui prédomine dans tout l'organe. Les tubes glandulaires sont très étroits et sont séparés par des zones larges de tissu conjonctif. A un fort grossissement on voit que l'épithélium est peu élevée. Ses noyaux sont colorés pour la plupart d'une manière intensive. Les lumières de la plupart des tubes ont dispares complètement et les tubes mêmes font l'impression des petits îlots composés de cellules épithéliales peu élevées. Là, où la lumière s'est conservée, elle est très étroite. Il y a des tubes où l'on voit une forte désquamation de l'épithélium. Les tubes ne contiennent pas du tout de sécrétion. Des fibres musculaires ne se rencontrent que par endroits.

Nous avons ainsi au cas donné incontestablement une atrophie très prononcée de la prostate. On aurait pu croire que cette expérience présente une confirmation de la théorie de Wilms et se trouve d'accord avec les résultats du travail de Sasaki, mais l'expérience suivante (№ 15), qui présente jusqu'à un certain degré une expérience de contrôle, [car le chien № 15 était de la même race et approximativement du même âge et du même poids que le chien № 14 et a été irradié dans du conditions identiques (le même jour et avec le même tube) que le chien № 14], a donné un tout autre résultat.

Procès-verbal de l'expérience № 15.

B.

Le chien a reçu en 2 séances à un intervalle de 19 jours une dose de 32 x et a été tué 86 jours après la dernière irradiation. A l'examen microscopique il a été établi que les élements spermatogènes (excepté quelques cellules isolées) dans les testicules font complètement défaut. La quantité de cellules de Leidig a considérablement augmenté.

Examen anatomo-pathologique de la prostate.

La prostate est bien développée. A la coupe elle est de couleur gris-rosâtre, succulente. A l'examen à un faible grossissement, on voit

que le tissu glandulaire, ainsi que le tissu musculaire, est très bien développé. Les tubes glandulaires sont larges, fortement ramifiés et sont étroitement serrés les uns contre les autres en formant des lobules vastes de parenchyme glandulaire séparés par des trabécules de fibres musculaires lisses et de tissu conjonctif qui se dirigent de la capsule et s'unissent de nouveau dans la région de l'urètre dans des couches vastes. Ces couches sont composées de faisceaux de muscles lisses séparés par des couches relativement petites de tissu conjonctif. Les tubes sont pour la plupart remplis de sécrétion. A l'examen à un fort grossissement on voit que l'épithélium glandulaire est élevé. Les cellules sont étroitement serrées les unes contre les autres et forment des plis festonnés qui entrent dans la lumière des tubes sous forme de grappes. Il y a des mitoses. Il n'y a pas d'infiltration par des cellules rondes. Les vaisseaux n'ont pas subi de changements.

Nous voyons ainsi que dans cette expérience qui peut être considérée comme expérience de contrôle par rapport à l'expérience № 14, non seulement il n'y a pas d'atrophie de la prostate mais qu'au contraire nous sommes incontestablement en présence d'une hyperplasie. L'état d'atrophie de la prostate dans l'expérience № 14 doit ainsi être considére comme phénomène accidentel.

Procès-verbal № 16.

B.

Le chien a reçu en une séance une dose de 18 à 20 x et a été tué 122 jours après l'irradiation. A l'examen des testicules il a été constaté qu'une partie des canalicules s'est rétablie complètement. La quantité de cellules de Leidig est augmentée.

Examen anatomo-pathologique de la prostate.

Prostate bien développée; à la coupe de couleur gris-jaunâtre, assez succulente.

A l'examen microscopique on voit que le parenchyme glandulaire de même que les fibres musculaires lisses sont très bien développés. Les tubes glandulaires sont larges et pour la plupart remplis de sécrétion. A un fort grossissement on peut voir que l'épithélium des tubes est assez élevé et forme des plis festonnés qui entrent dans la lumière des tubes. Il n'y a pas d'infiltration par des cellules rondes.

Pour donner au lecteur la possibilité de se mieux orienter, je résume dans le tableau qui suit les résultats de mes expériences en ce qui concerne l'examen microscopique des testicules et de la prostate.

le chien a été tué seulement 12 jours après la première irradiation. Dans les testicules de ce chien, il a été constaté des signes bien prononcés d'un processus de dégénérescence en ce qui concerne les cellules spermatogènes et une quantité modérée de cellules de Leidig.

Ce n'est que dans l'expérience № 14, dans laquelle l'animal a été sacrifié 86 jours après la dernière irradiation, que l'on peut établir une atrophie bien prononcée de la prostate. Les résultats de cette expérience se trouvent en contradiction avec toutes mes autres observations et semblent plaider en faveur de la théorie de Wilms, mais dans l'expérience № 15 où le chien de la même race, du même poids et du même âge a été irradié dans des conditions identiques et tué le même jour que le chien № 14, nous avons reçu un tout autre résultat: la prostate a été trouvée dans un état florissant avec une épithélium glandulaire bien développé (mitoses) et une sécrétion abondante.

C'est pourquoi il faut supposer que l'atrophie de la prostate dans l'expérience № 14 est accidentelle, qu'elle était provoquée par un processus d'inflammation quelconque ne se trouvant pas en lien causal avec l'irradiation.

Il nous faut encore nous arrêter à l'expérience № 9 et l'expérience de contrôle de cette expérience (№ 17).

Ainsi qu'il a été déjà indiqué cette expérience a été faite sur un jeune chien de 4 mois avec le but d'arrêter le développement des testicules. Le jeune chien de contrôle № 17 provenant de la même portée que le chien № 9 n'a pas été irradié; le chien № 9 a subi une irradiation intensive durant un intervalle de 7 mois.

Chez le chien № 9 il a été constaté, en effet, un arrêt considérable en ce qui concerne le développement des testicules par rapport au chien de contrôle.

Macroscopiquement les testicules du chien № 9 se distinguent déjà fortement des testicules du chien de contrôle: ils sont 2 à 3 fois plus petits. Microscopiquement les testicules du chien № 9 présente un tableau d'hypoplasie en comparaison avec les testicules du chien № 17; les canalicules sont des dimensions considérablement plus petites; outre des archispermiocytes, nous n'y avons pas constaté d'autres élements spermatogènes; les dimensions des canalicules du chien de contrôle sont considérablement plus grandes, ils contiennent plusieurs générations de cellules spermatogènes, mais les spermies y font défaut. La quantité de cellules de Leidig chez le chien № 9 est aussi, à ce qu'il paraît, inférieure à celle du chien № 17.

En ce qui concerne la prostate, on constate incontestablement dans l'expérience № 9 un arrêt du développement en comparaison avec l'expérience de contrôle. Tandis que chez le chien № 17 la prostate est

bien développée, les tubes glandulaires sont ramifiés et l'épithélium est élevé, chez le chien № 9 on a constaté un développement considérable de tissu conjonctif, un épithélium peu élevé et une ramification peu considérable des tubes glandulaires. Nous avons ainsi obtenu dans l'expérience № 9 grâce à la rœntgenisation non seulement l'arrêt du développement des testicules, mais aussi de la prostate.

IV.
Sur le mécanisme de l'action des testicules sur la prostate.

Les résultats de mes expériences sur l'irradiation des chiens adultes ne confirment pas ainsi la supposition, suivant laquelle, par analogie à la castration chirurgicale, la castration par l'action des rayons x doit entraîner l'atrophie de la prostate. Au contraire, dans la majorité de mes expériences j'ai pu établir, à côté de l'atrophie des élements spermatogènes, un développement et une multiplication considérable du parenchyme glandulaire de la prostate.

C'est pourquoi il est important d'élucider la cause de ce phénomène, de même que d'expliquer pourquoi existe-t-il une différence fondamentale entre la castration chirurgicale et le phénomène dit castration par les rayons de Rœntgen. Il faut d'ailleurs faire remarquer que le terme de „castration" ne peut pas être considéré comme terme exact pour désigner les changements qui ont lieu dans les testicules après l'irradiation par les rayons de Rœntgen.

Nous avons vu que par l'irradiation des testicules par les rayons x nous ne pouvons atteindre que l'atrophie des élements spermato- des testicules, que la suppression de leur fonction génerative. Des changements caractéristiques de l'état générale des castrats ne se produisent pas dans ce cas dans l'état général de l'organisme. Déjà *a priori* il est difficile de supposer que la sécrétion interne des testicules est lié aux élements spermatogènes dont la fonction est d'élaborer la „sécrétion" externe, le sperme.

C'est, à ce qu'il paraît, cette supposition invraisemblable que fait Wilms qui admet la destruction par les rayons de Rœntgen de l'hormon qui favorise le développement de la prostate, mais il oublie que par les rayons de Rœntgen (surtout par des doses curatives) nous pouvons supprimer la spermatogénèse, sans provoquer dans l'organisme des phénomènes qui témoigneraient d'un abaissement de la sécrétion interne des testicules. Ce n'est que l'enlèvement complet des testicules qui provoque des changements bien prononcés dáns l'état géneral de l'organisme et conduit aussi à l'atrophie fortement prononcée de la prostate.

№ de l'expérience.	Nombre de séance.	Dose.	Dans combien de jours le chien a été tué		Testicules (à l'examen microscopique).	Prostate (à l'examen microscopique).
			après la 1ière séance.	après la dernière séance.		
13	1	60 x.	5	5	Commencement d'un processus de dégénérescence des élements spermatogènes. Quantité de cellules de Leidig pas grande	Tissu glandulaire et musculaire bien développé.
14	2	33 x.	105	86	Ne se sont conservés que des archispermiocytes isolés. Quantité de cellules de Leidig pas grande.	Développement extraordinairement fort du tissu conjonctif et atrophie du tissu glandulaire.
15	2	32 x.	105	86	Se sont conservées des cellules spermatogènes isolées. Grande quantité de cellules de Leidig.	Fort développement du tissu glandulaire tant au point de vue quantitatif qu'au point de vue qualitatif. Abondance de sécretion. Il y a des mitoses. Le tissu musculaire est aussi bien développé.
16	1	18—20 x.	122	122	La quantité des élements spermatogènes est inférieure à la norme, mais on constate toutes les espèces jusqu'aux spermatozoïdes. Quantité assez grande de cellules de Leidig.	Tissu glandulaire et musculaire très bien développé. Abondance de sécrétion

III.

Conclusion génerales.

En examinant les résultats que j'ai obtenus dans mes recherches concernant les testicules parallélement aux résultats de mes recherches concernant la prostate, nous devons faire des conclusions quelque peu inattendues.

Dans la revue bibliographique nous avons vu que la castration et la résection du cordon spermatique entraînent l'atrophie de la prostate. On pourrait croire que la castration par les rayons de Rœntgen, c. a. d. l'atrophie des testicules par l'action de ces rayons, entraîne aussi l'atro-

phie de la prostate. Mais déjà l'aspect extérieur, l'état général et l'activité sexuelle des animaux „castrés" par l'action des rayons de Rœntgen montre d'une manière nette qu'il existe une différence énorme entre la castration chirurgicale et l'atrophie des testicules par l'action des rayons x. Tandis que, après la castration, il se manifeste une série de changements dans l'organisme de l'animal et la fonction sexuelle s'éteint, la destruction des élements spermatogènes des testicules par l'action des rayons x ne retentit pas d'une manière quelque peu sensible sur l'état général de l'animal; l'excitation sexuelle est même, suivant Regaud et Dubreuil, exaltée chez des animaux dont on a irradié les testicules.

Mes observations sur l'état de la prostate chez des animaux dont les testicules ont été irradiés s'accordent bien avec les faits cités plus haut. Chez 12 sur 16 animaux irradiés la prostate a été trouvée non seulement dans un état florissant, mais même avec des signes bien prononcés d'une hyperplasie du tissu glandulaire (v. exp. №№ 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 10, 12, 13, 15 et 16); il faut faire remarquer que le №№ 12 et 13 exceptés, les chiens ont été tués 60 à 462 après le commencement de l'irradiation des testicules.

Il est important d'indiquer que les changements les plus forts au point de vue de l'hyperplasie ont été constatés chez les chiens №№ 1, 3, 4, 6, 7, 8, 10 et 15, chez lesquels il a été établi l'absence complète des élements spermatogènes.

Dans tous ces cas, on a pu constater un parenchyme glandulaire développé d'une manière extraordinairement forte, l'abondance de sécrétion et, ce qui est surtout remarquable, une quantité plus ou moins considérable de mitoses qu'on ne trouve pas ordinairement dans la prostate d'un chien adulte (Schmaltz).

Dans les expériences №№ 12 et 13 la prostate s'est montrée aussi bien développée, bien que le chien № 12 ait été sacrifié 10 jours et le chien № 13 5 jours après l'irradiation. Il faut pourtant faire remarquer que chez le chien № 12 un testicule se trouvait dans la cavité péritonéale et que l'examen microscopique a montré qn'en présence d'un développement considérable des cellules de Leidig il ne contenait pas d'élements spermatogènes.

Dans l'expérience № 15, où le chien a succombé à une gastroentérite 28 jours après la dernière irradiation, il a été constaté dans les testicules des cellules spermatogènes isolées et une quantité modérée de cellules de Leidig; dans la prostate le tissu glandulaire a été développé d'une manière modérée, et le tissu conjonctif et musculaire d'une manière considérable.

Un faible développement du parenchyme glandulaire, l'absence de mitoses et le développement considérable du tissu conjonctif et musculaire à été constaté aussi dans l'expérience № 11. Mais dans cette expérience

№ de l'expérience.	Nombre de séances.	Dose.	Dans combien de jours le chien a été tué		Testicules (à l'examen microscopique).	Prostate (à l'examen microscopique).
			après la 1ière séance.	après la dernière séance.		
1	10	128—137 x.	101	11	Les élements spermatogènes font complètement défaut. Augmentation considérable de la quantité de cellules de Leidig.	Développement abondant du tissu glandulaire. Mitoses. Abondance de sécretion.
2	7	66—70 x.	60	8	Il n'y a pas de spermiogénèse (il n'y a que des cellules isolées). Augmentation considérable de la quantité de cellules de Leidig.	Développement considérable des tubes glandulaires. Mitoses.
3	8	85—90 x.	76	11	Les élements spermatogènes font complètement défaut. Augmentation considérable de la quant. de cellules de Leidig.	Hyperplasie du tissu glandulaire et musculaire. Beaucoup de mitoses. Grande quantité de sécretion.
4	6	55—58 x.	207	148	Les élements spermatogènes font complètement défaut. Augmentation de la quant. de cellules de Leidig.	Tissu musculaire et glandulaire fortement développé. Abondance de sécretion.
5	4	52—55 x.	53	28	Ne se sont conservés que des spermatocytes isolés. Augmentation modérée de la quant. de cellules de Leidig.	Développement considérable du tissu musculaire et conjonctif. Dévelop. modéré du tissu glandulaire.
6	8	98—100 x.	462	253	Les élements spermatogènes font complètement défaut. Augment. considér. de la quant. de cellules de Leidig.	Parenchyme glandulaire fortement développé. Beaucoup de mitoses. Abondance de sécrétion.
7	3	58 x.	242	228	Les élements spermatogènes font complètement défaut. Augment. considér. de la quant. de cellules de Leidig.	Parenchyme bien développé; beaucoup de mitoses. Abondance de sécrétion.
8	2	18—20 x.	213	205	Les élements spermatogènes font complètement défaut. Fort développement de cellules de Leidig.	Parenchyme glandulaire fortement développé. Mitoses. Tubes régorgeant de sécrétion.

№ de l'expérience.	Nombre des séances.	Dose.	Dans combien de jours le chien a été tué — après la 1ière séance.	Dans combien de jours le chien a été tué — après la dernière séance.	Testicules (à l'examen microscopique).	Prostate (à l'examen microscopique).
9 Jeune chien	8	193—107 x.	214	28	Petites dimensions des canalicules. Les élements spermatogènes ne font pas complètement défaut. Les cellules de Sertoli se trouvent dans un bon état. Dévelop. modéré des cellules de Leidig.	Developpement considérable du tissu conjonctif en comparaison à l'expérience de contrôle. Epithélium glandulaire peu élevé.
17 Jeune chien de contrôle	—	N'a pas été irradié.	—	—	Testicules à l'état de préspermatogénèse. Il n'y a pas de spermies, mais il y a beaucoup d'élements spermatogènes. Cellules de Leidig assez nombreuses.	Parenchyme glandulaire bien développé. Moins de tissu conjonctif que chez le chien № 9. Il y a des mitoses.
10	7	115—119 x.	212	32	Les élements spermatogènes font complètement défaut. Augmentation fort considérable de la quantité de cellules de Leidig.	Développement bien considérable des élements glandulaires tant au point de vue quantit. qu'au point de vue qualitatif. Abondance de sécrétion. Il y a des mitoses.
11	2	66—71 x.	12	10	Dégénérescence fortement prononcée des élements spermatogènes, bien qu'il y ait encore beaucoup de cellules qui se sont bien conservées. Quantité modérée de cellules de Leidig.	Développement considérable du tissu conjonctif et des fibres musculaires. Les tubes glandulaires sont étroits et peu ramifiés. Il n'y a pas de mitoses.
12	2	50 x.	10	9	Testicules droit non irradié qui se trouvait dans la cavité péritonéale: les élements spermatogènes font complètement défaut; quantité considérable de cellules de Leidig. Testicule gauche irradié: commencemment d'un processus de dégénérescence des élements spermatogènes; quantité modéré de cellules de Leidig.	Le tissu musculaire et glandulaire bien développé. Il y a des mitoses. Par endroits infiltration par des cellules rondes.

Nous ne voulons pas nous arrêter à l'opinion des auteurs (Guérrat) qui voient la cause de l'atrophie de la prostate après la castration chirurgicale en ceci qu'avec l'ablation des testicules doivent souffrir aussi leurs voies excrétrices, au nombre desquels appartient aussi, selon ces auteurs, la prostate.

Mais même si l'on n'insiste pas sur l'objection qu'on ne peut pas voir dans la prostate quelque chose comme une voie excrétrice qui s'oblitère lorsque la sécrétion du sperme cesse, mes expériences démontrent d'une manière incontestable qu'en dépit du fait, que grâce à l'atrophie des élements spermatogènes la sécrétion du sperme a cessé complètement, la prostate ne s'est pas atrophiée même plusieurs mois après.

On doit considérer comme plus fondée l'opinion de Przevalsky et de Pankratiev qui supposent que la les lésions des nerfs de Cooper présentent la cause directe de l'atrophie de la prostate après la castration.

Mais cette explication n'est pas non plus complètement suffisante, si l'on prend en considération les résultats de mes expériences. En effet, si même il faut admettre qu'après la rœntgenisation des testicules les nerfs de Cooper ne subissent pas de changements, il est tout de même difficile d'expliquer l'hyperplasie de la prostate que l'on constate dans beaucoup de cas.

Enfin dans l'expérience № 9, où l'on peut établir d'une manière incontestable un arrêt du développement de la prostate, on ne peut pas expliquer cet arrêt en se plaçant au point de vue de Przevalsky et de Pankratiev, car dans ce cas les nerfs de Cooper ne sont pas lésés.

Il y a encore un groupe d'auteurs (Isnardi, Mac-Ewan et d'autres) qui essaient d'expliquer le lien entre la prostate et les testicules par la sécrétion interne des testicules.

Suivant cette théorie, la croissance et le développement des glandes sexuelles accessoires de la prostate, des glandes de Cooper etc. dépend de la sécrétion interne des testicules.

Cette hypothèse peut expliquer pourquoi la castration et les opérations qui occasionnent l'atrophie de deux testicules entraînent aussi l'atrophie de la prostate, tandis que la résection du canal déférent ne donne pas ce résultat. En émettant cette supposition, les auteurs mentionnés plus haut ont en vue la sécrétion interne des testicules en général sans la lier aux élements determinés du testicule.

Certainement l'enlèvement complet de deux testicules exclut toute possibilité de leur sécrétion interne.

De même toute lésion des nerfs du cordon spermatique, qui vont aux testicules, entraîne, suivant les recherches de Bouin et Ancel et de S. Vincent et Copeman, l'atrophie de tous les tissus des testicules, leur sclérose.

On obtient un autre tableau après l'irradiation des testicules par les rayons de Rœntgen. L'atrophie, ainsi que nous le savons, ne concerne ici que les canalicules seminifères. Le tissu interstitiel non seulement ne s'atrophie pas, mais, comme nous l'avons vu, les cellules de Leidig manifestent un développement considérable.

Aux cellules de Leidig est attribué le dernier temps, surtout de la part des auteurs français, une grande importance: ce sont ces cellules que l'on considère comme les élements auxquels est liée la sécrétion interne des testicules. C'est pourquoi nous voulons nous arrêter d'une manière plus détaillée sur les cellules de Leidig et sur le rôle que différents auteurs leur attribuent.

V.

Sur le rôle des cellules de Leidig.

Les cellules interstitielles des testicules ont été découvertes et décrites par Leidig en 1850. Il les décrit comme des cellules ayant le caractère de cellules de tissu conjonctif et qui contiennent des grains de pigment et de graisse.

Leidig a découvert ces cellules dans les testicules des mammifères; Kölliker les a découvertes en 1854 dans les testicules de l'homme. Il existe une bibliographie abondante concernant l'anatomie et la physiologie des cellules de Leidig.

Henle a décrit scrupuleusement leur morphologie, mais ne dit rien en ce qui concerne leur fonction.

Ludwig et Tomsa supposent que dans ces cellules commencent les voies lymphatiques du testicule et qu'elles forment comme les parois des premières voies capillaires.

Boll admet qu'il existe une relation étroite entre les cellules de Leidig et les vaisseaux sanguins capillaires.

Dans sa dernière communication Waldeyer les considère comme des cellules qui entourent les vaisseaux sanguins (périthélium), bien que dans sa première communication il les rapporte aux cellules qui absorbent volontiers de la graisse.

Michalkowicz partage l'opinion de Ludwig et Tomsa et considère comme caractéristique de ces cellules leur teneur en graisse.

Hofmeister considère que la disposition des cellules de Leidig ne dépend pas de la direction des vaisseaux sanguins. Il a trouvé, en outre, que chez un embryon de 4 mois ces cellules occupent $^2/_3$ de tout le parenchyme du testicule et chez un enfant de 8 ans elles occupent $^1/_{10}$ de ce parenchyme pour se développer ensuite au moment de la puberté.

dans la glande séminale embryonnaire aux dépens des cellules de mesenchyme avant que les cellules séminales reçoivent les particularités caractéristiques du sexe. Les glandes sexuelles, dans lesquelles apparaissent les cellules interstitielles, se développent et deviennent glandes sexuelles du mâle (testicules). Les glandes d'une future femelle ne renferment pas ces cellules, au moins dans la période embryonnaire.

Les auteurs en déduisent que les cellules interstitielles constituent dans leur ensemble l'organe caractéristique de la glande sexuelle mâle, tout au moins pen dant la période embryonnaire du développement.

„L'apparition des cellules interstitielles, précède donc, disent Bouin et Ancel: le déterminisme cyto-sexuelle des cellules gérminatives primordiales qui par leur structure du moins paraissent être demeurées jusqu'à ce moment à l'état d'indifférenciation sexuelle." „On peut donc supposer que la glande interstitielle possède chez l'embryon comme chez l'adulte non seulement une action locale, mais encore une action générale. Non seulement elle déterminerait le sexe des gamètes par son action locale (en fournissant des matières nutritives spécifiques), mais elle tiendrait aussi sous sa dépendance les caractères sexuels secondaires, car pendant leur vie intra-utérine les organismes mâles bénéficient d'une sécrétion interne spéciale qui leur procurerait les caractères essentiels de leur sexe (caractères sexuels secondaires) que ne pourra plus faire complètement disparaître la castration pratiquée même dès-la naissance."

Les auteurs formulent de la manière suivante les résultats de leurs recherches:

1) le déterminisme cyto-sexuel (caractères sexuels primaires) se trouve sous la dépendance de la glande interstitielle;

2) le déterminisme des caractères sexuels secondaires se trouve sous la dépendance de la glande interstitielle non seulement après la naissance, mais au cours de la vie intra-utérine.

Bouin et Ancel terminent leurs belles recherches par des observations sur les suites de l'atrophie et de l'insuffisance de la glande interstitielle. Parmi les lapins, auxquels on a fait l'opération de la ligature ou de la résection du canal déférent certains prenaient peu à peu l'aspect et le caractère d'animaux castrés. L'instinct sexuel faisait complètement défaut chez eux. Les testicules restaient petits. L'examen microscopique a montré que les canalicules ont leur structure embryonnaire; il y a très peu de cellules interstitielles, qui sont plates ou fusiformes et ne contiennent pas ou contiennent peu de produits de sécrétion. L'atrophie de la glande interstitielle a eu ainsi pour conséquence le fait que les animaux ont pris l'aspect d'animaux castrés.

La cause du fait que dans certains cas la glande interstitielle s'atrophiait et dans d'autres l'atrophie ne se manifestait pas, Bouin et Ancel voient en ceci qu'aux cas où la glande s'atrophiait l'opération était accompagnée de la lésion des nerfs qui vont au testicule ce qui conduisait à son atrophie générale (v. plus haut).

Chez des cryptorchides à des caractères bien prononcés des castrats on peut établir aussi l'absence de la glande interstitielle.

Parmi les porcs cryptorchides certains, d'après leur aspect et le développement de leur tractus génital, doivent occuper une place intermédiaire entre les animaux normaux et les animaux castrés.

Bouin et Ancel trouvaient chez de tels animaux toujours une glande interstitielle non suffisamment développée.

Les résultats de leurs recherches conduisent Bouin et Ancel à la conclusion incontestablement bien fondée, suivant laquelle les cellules de Leidig ou, comme ils les appellent, la glande interstitielle, ont, outre la fonction nourricière, une fonction encore beaucoup plus importante: elles présentent l'organe de l'activité duquel dépend toute la sécrétion interne du testicule, dépendent l'aspect général du mâle, les caractères sexuels secondaires, le développement des glandes sexuelles accessoires, l'instinct sexuel et même le sexe mâle de l'embryon.

La théorie de Bouin et Ancel a trouvé sa confirmation dans les expériences de Tandler et Gross qui ont provoqué par les rayons de Rœntgen l'atrophie des élements spermatogènes des testicules des cerfs, ce qui n'a pas entraîné la disparition de cornes (caractères sexuels secondaires), tandis que les cerfs mâles perdent leurs cornes après la castration.

D'autre part, en se basant sur ses recherches nombreuses sur des testicules rœntgenisés des chiens, Kyrle (1910) considère que le rôle des cellules de Leidig est purement trophique.

D'après Kyrle, dans les testicules rœntgenisés deux processus ont lieu: un processus de dégénération et un processus de régénération. D'abord a lieu la destruction de l'épithélium, ensuite apparaissent les cellules géantes décrites par Maximov à l'étude du processus de la cicatrisation des lésions du testicule et qui ont été observées par Maretti dans des conditions normales, car dans les testicules a lieu sans cesse la désagrégation des élements spermatogènes. Parallèlement à la destruction des élements spermatogènes, a lieu la multiplication et le développement du tissu interstitiel, la croissance des cellules de Sertoli. Dans cette période est possible la régénération des cellules spermatogènes.

Des changements analogues se produisent non seulement à la suite de la rœntgenisation, mais à la suite de l'action d'autres agents nuisibles. Au cours des processus aigus et chroniques, surtout chez de jeunes per-

chez lesquels il y avait un rétrécissement des voies excrétrices du sperme à la suite d'un processus pathologique.

Les observations sur des hommes et des animaux cryptorchides établissent qu'ils sont atteints de stérilité, mais par leur aspect extérieur, le développement de leur tractus génital et par les autres caractères, ils ne se distinguent en rien des mâles normaux. L'examen microscopique des testicules cryptorchides montre qu'ils sont composés de canalicules qui ne contiennent que des cellules de Sertoli. Entre ces canalicules se trouve une „glande interstitielle“ normale.

La castration de tels animaux cryptorchides fait disparaître leurs particularités sexuelles et entraîne l'extinction de l'instinct sexuel.

Un tableau rappelant celui que donnent les testicules ectopiques à la cryptorchidie, Bouin et Ancel ont obtenu aussi en faisant la ligature des canaux déférents. Plusieurs mois après l'opération tous les élements spermatogènes ont disparu; ne sont restées que les cellules de Sertoli et la glande interstitielle n'ayant pas subi de changements.

Placés avec des femelles, ces animaux ne se distinguaient en rien des mâles normaux. Les caractères sexuels non seulement ne disparaissaient pas avec la croissance des animaux, mais, au contraire, devenaient plus accentués.

On pouvait observer les mêmes phénomènes chez des animaux chez lesquels il y avait un retrécissement du canal déférent à la suite d'un processus pathologique.

Bouin et Ancel ont prouvé ainsi que l'instinct génésique et les caractères sexuels ne dépendent pas de l'activité des élements spermatogènes.

Il fallait encore prouver que les cellules ou le syncytium de Sertoli ne se trouvent pas en relation avec la sécrétion interne du testicule.

Pour prouver cette thèse ils ont fait l'expérience spirituelle suivante.

En se basant sur le fait que l'ablation d'un des représentants d'un système glandulaire pair amène au bout d'un certain temps l'hypertrophie compensatrice de la glande opposée surtout de ceux de ses élements qui suppléent à l'insuffisance fonctionnelle qui résulte de l'opération, Bouin et Ancel enlevaient à leurs animaux un testicule et faisaient la résection du canal déférent de l'autre testicule. Ils conservaient les animaux opérés de cette manière plusieurs mois (6 à 12) et étudiaient ensuite le testicule.

Il s'est montré que les canalicules seminifères étaient atrophiées d'une manière bien prononcée; ne s'y sont conservées que les cellules de Sertoli qui présentaient des signes de dégénérescence. La glande interstitielle était fortement hypertrophiée.

Les cellules de Sertoli non seulement ne présentaient pas d'hypertrophie compensatrice, mais se trouvait à l'état de dégénération, tandis que la glande interstitielle présentait une hypertrophie compensatrice.

Les animaux manifestaient en présence des femelles un instinct sexuel normal en dépit de ce qu'ils n'etaient en temps de l'opération qu'a l'âge de 6 à 7 mois.

Une confirmation ultérieure de leur thèse, suivant laquelle les cellules de Sertoli ne possèdent pas la fonction de la sécrétion interne, Bouin et Ancel trouvent dans le résultat de leur étude des testicules de trois porcs, chez lesquels les glandes séminales se trouvaient à l'état embryonnaire, lorsque le syncytium de Sertoli ne s'est pas encore différencié, tandis que la glande interstitielle était bien développée. Les particularités sexuelles externes et le caractère sexuel de ces animaux étaient aussi bien développés que chez des animaux avec des testicules complètement normaux.

C'est pourquoi les auteurs considèrent comme prouvé que les cellules de Sertoli ne jouent aucun rôle dans la sécrétion interne, car elles ne manifestent pas le phénomène de l'hypertrophie compensatrice et leur absence ne retentit pas sur l'état de l'organisme. Ce n'est qu'à la glande interstitielle seule qu'appartient la fonction de la sécrétion interne.

Puis Bouin et Ancel ont étudié le rôle de la glande interstitielle chez de jeunes animaux et des embryons. En faisant la ligature des canaux déférents chez de jeunes animaux, ils n'ont pu tout de même arrêter le développement de la spermatogénèse. Les canalicules seminifères et les cellules spermatogènes se développaient d'une manière normale jusqu'à la puberté; ensuite elles s'atrophiaient de la même manière qu'à la ligature des canaux déférents chez des animaux adultes.

C'est pourquoi les auteurs ont essayé de résoudre cette question par d'autres méthodes. Ils étudiaient de jeunes porcs atteints d'une cryptorchidie unilatérale; on faisait l'ablation du testicule se trouvant dans les bourses lorsque les animaux avaient six semaines.

L'examen des testicules qui n'était pas descendus a montré que les glandes séminales sont restées à l'état embryonnaire, tandis que les glandes interstitielles étaient fortement développées. L'aspect extérieur des animaux était normal, caractéristique des mâles: le tractus génital et les glandes accessoires étaient bien développés.

Les animaux n'ayant eu qu'une glande interstitielle bien développée, Bouin et Ancel en déduisent que l'apparition des particularités sexuelles ne dépend que de cette glande.

L'étude des embryons du porc par Bouin et Ancel a montré que les cellules interstitielles apparaissent très tôt. Elles se différencient

Chez un homme adulte les cellules de Leidig se trouvent en assez grande quantité et contiennent du pigment et de la graisse. Hofmeister considère comme prouvée l'opinion selon laquelle les cellules de Leidig sont de la même origine que le tissu conjonctif.

Nussbaum a trouvé toujours les cellules de Leidig chez les mammifères, les reptiles et les oiseaux. Il attribue une grande importance aux membranes minces qui séparent les grands ou les petits groupes de cellules de Leidig les uns des autres.

Nussbaum suppose que le tissu interstitiel provient des travées de Pflüger qui sont restées à un dégré inférieur de développement, mais qui auraient pu se tranformer en canalicules seminifères.

V. Ebner insiste sur la relation entre les cellules de Leidig et les vaisseaux sanguins.

Nagel affirme que les cellules de Leidig n'apparaissent chez l'embryon humain que lorsque cellui-ci atteint la longueur de 10 cm.

Hanseman à trouvé que chez les animaux hibernants (chez les marmotte pendant le sommeil d'hiver, c. a. d. lorsque les testicules se trouvent à l'état de l'aspermatogénése) les cellules de Leidig font complètement défaut, tandis que peu de temps après le réveil il a trouvé des testicules bien fonctionnant et des cellules de Leidig en abondance.

Reinke a constaté dans les cellules de Leidig de l'homme une espèce speciale de cristalloïdes qui se trouvent, selon lui, dans tous les testicules fonctionnant bien.

Böhm et Davidov de même que Lenhossék, admettent que les cellules de Leidig sont d'origine épithéliale.

v. Bardleben croit que les cellules de Leidig peuvent pénétrer par les fissures de la *membrana propria* des canalicules à l'interieur des canalicules et se transformer en cellules de Sertoli (!); il considère aussi qu'elles sont d'origine épithéliale.

Se basant sur ses recherches embryologiques, Plato suppose que les cellules de Leidig sont incontestablement de la même origine que le tissu conjonctif et affirme que la fonction de ces cellules est de fournir des matières nutritives (des matières lipoïdes) à l'intérieur des canalicules seminifères. Il décrit les trous spéciaux de la *membrana propria* des canalicules qu'il a dècouverts dans les testicules du chat et par lesquels les cellules de Leidig transmettent les matières lipoïdes à l'intérieur des canalicules. Cependant l'opinion de Plato, suivant laquelle des gouttes de graisse peuvent passer du tissu interstitiel dans les canalicules par les trous de la *membrana propria*, est contestée par v. Lenhossek et aussi par Beissner.

En se basant sur ses recherches scrupuleuses où il a examiné ce problème au point de vue de l'embryologie et de l'anatomie comparée, Friedmann arrive aux conclusions suivantes:

1) les cellules de Leidig sont indubitablement de la même origine que le tissu conjonctif;

2) le développement du tissu interstitiel subit des oscillations chez tous les animaux suivant leurs besoins physiologiques;

3) il existe un lien étroit entre le développement du tissu interstitiel et l'état des canalicules seminifères;

4) une des fonctions importantes des cellules interstitielles consiste en ceci qu'elles ramassent des réserves des matières nutritives grasses, qu'elles transmettent en partie en état formé, en partie en état dissout dans les canalicules.

Dans son travail connu, Regaud (1901) a démontré aussi que les cellules de Leidig servent à fournir des matières nutritives (matières lipoïdes) dans les canalicules, où ces matières sont transportées grâce à l'activité des cellules de Sertoli. Kyrle et Mazetti considérent aussi que le rôle des cellules de Leidig est de fournir des matières nutritives.

L'immense majorité des auteurs considèrent ainsi que les cellules de Leidig sont d'origine mésodermique et qu'elles ont des fonctions nourricières, qu'elles élaborent et fournissent des matières nutritives aux élements spermatogènes et aux spermatozoïdes.

Cependant déjà Regaud et Policard (1901), Mosselmann et Rubay émettent la supposition que la sécrétion interne des testicules est liée aux cellules de Leidig.

Mais ce sont Bouin et Ancel (1903—1904) qui ont apporté des bases expérimentales à cette hypothèse et qui l'ont prouvée dans une série de travaux par des expériences spirituelles et démonstratives. Ce sont ces auteurs qui ont introduit le terme de la glande interstitielle des testicules.

Nous devons nous arrêter d'une manière plus détaillée sur ces travaux de Bouin et Ancel.

En se basant sur leurs nombreuses et scrupuleuses recherches, ces auteurs arrivent à la conclusion que les cellules de Leidig possèdent incontestablement une fonction trophique, mais que tout de même leur rôle principal consiste en ceci qu'il présentent le siège de la sécrétion interne qui a été attribuée à tout le testicule.

Pour élucider le rôle de la glande intetstitielles chez des individus adultes ils tâchent avant tout de prouver que l'appareil séminal ne posséde pas la fonction de la sécrétion interne.

Pour prouver cette thèse: 1) ils utilisaient les résultats de l'étude des animaux cryptorchides à un type de mâle bien prononcé; 2) ils faisaient la ligature du canal déferent et 3) ils étudiaient des animaux

sonnes on peut toujours établir des processus de dégénérescence de l'épithélium, ainsi que sa régénération en présence de la multiplication simultanée des cellules interstitielles.

Des lésions fortes de testicules entraînent l'épaississement de la *membrana propria* des canalicules et la transformation des cellules interstitielles en cellules de tissu conjonctif. Le tissu du testicule devient scléreux et sa régénération n'est plus possible.

La régénération de l'épithélium séminal étant toujours précédée de la multiplication des cellules de Leidig, Kyrle admet qu'il existe un lien entre ces phénomènes et que la régénération de l'épithélium n'est possible que lorsque les cellules de Leidig fournisseut les matières nutritives nécessaires.

Kyrle qui s'est servi ainsi que Goldmann de la coloration vitale par le bleu de pyrrol a trouvé que les cellules interstitielles laissent passer des appendices par les parois des canalicules et fournissent ainsi des matières nutritives à l'intérieur des canalicules.

Kyrle arrive ainsi à la conclusion que le rôle des cellules de Leidig est purement trophique.

Les adversaires de la théorie dé Bouin et Ancel considèrent que la fonction des cellules de Leidig n'est que de fournir des matières nutritives aux cellules spermatogènes pour leur régénération. Par cette régénération ils expliquent la conservation des caractères sexuels secondaires et tout ce que Bouin et Ancel attribuent à la sécrétion interne des cellules de Leidig.

Quant à la fonction trophique des cellules de Leidig, personne ne la conteste pas actuellement; nous avons vu que Bouin et Ancel la réconnaissent aussi; mais les cellules de Leidig peuvent en même temps jouer aussi un rôle dans la sécrétion interne.

Les arguments des adversaires de la théorie de Bouin et Ancel deviennent bien précaires dès qu'ils ont affaire à des faits tels que la conservation des caractères sexuels chez des cryptorchides chez lesquels les élements spermatogènes font défaut. Il en est de même en ce qui concerne les animaux chez lesquels tous les élements spermatogènes ont été détruits par la rœntgenisation, car on ne peut pas admettre que les hormons qui contribuent à la conservation des caractères sexuels de l'animal proviennent des élements qui n'existent pas au moment donné.

Dans son livre intéressant sur la sécrétion interne Biedl après l'éxamen critique des opinions qui existent en ce qui concerne le rôle des cellules de Leidig arrive à la conclusion „qu'il faut considérer les cellules de Leidig qui se trouvent dans le tissu interstitiel du testicule comme les élements figurés d'où proviennent les hormons qui donnent à l'organisme son caractère mâle. A ces cellules interstitielles on

peut, en dépit de leur origine mésodermique, mais vue leur structure, attribuer le pouvoir d'élaborer et de faire passer dans le sang des substances spécifiques et à ce point de vue l'ensemble de cellules peut être désigné comme glande interstitielle."

„Au point de vue fonctionnel, cette glande, grâce à ses produits de sécrétion, joue peut-être un rôle déjà à la différenciation de la glande sexuelle émbryonnaire indifférente en la glande mâle au cours du développement normal et à la maturation de la partie générative de la glande sexuelle; elle joue un rôle important dans le développement des appareils accessoires du système sexuel, dans les changements périodiques provoqués par le rut et dans la conservation des caractères morphologiques et sexuels propres au sexe mâle."

Biedl se rallie ainsi entièrement à la conception de Bouin et Ancel concernant le rôle des cellules de Leidig.

Quant à moi, en me basant sur mes expériences, je peux aussi me rallier à la conception de ces savants.

Ce n'est que la théorie de Bouin et Ancel sur le rôle des cellules de Leidig qui permet d'explipliquer les faits que j'ai constatés au cours de mes recherches.

En effet, dans la majorité de mes expériences j'ai obtenu en présence de l'atrophie complète de l'appareil spermatogène des testicules un développement abondant du parenchyme glandulaire de la prostate, surtout aux cas où l'atrophie de l'appareil séminal s'est maintenue durant des mois.

On constate en même temps presque dans tous les cas un développement et une multiplication considérable des cellules de Leidig.

Il est clair que le développement considérable de la prostate n'a pu dépendre des élements de l'appareil, spermatogène qui ont fait défaut, il etait manifestement occasioné par l'hypertrophie des cellules interstitielles.

On peut se représenter le mécanisme de ce processus de la manière suivante:

Sous l'influence de l'irradiation par les rayons de Rœntgen sont détruits par voie élective les élements spermatogènes. Il est bien possible que dans ce cas les cellules de Sertoli (cellules-nourricières) sont lésées directement.

Nous nous trouvons ainsi en présence d'une dissociation de deux glandes se trouvant dans le testicule (glande de sécrétion externe et glande de sécretion interne) et qui sont liées par une série de conditions communes (vaisseaux et nerfs). L'une d'elles (la glande séminale) s'atrophie et l'autre, étant moins sen-

sible vis-à-vis de l'action des rayons, grâce à une série de circonstances (diminution de la pression du côté des canalicules séminifères, meilleure alimentation aux dépens de la glande atrophiée) s'hypertrophie.

Mais l'hypertrophie de cette glande entraîne naturellement l'hypersécrétion. L'hypersécrétion de la glande interstitielle ne peut se manifester évidemment que du côte de la sécrétion interne, car, grâce a la destruction des élements spermatogènes, le rôle trophique des cellules de Leidig se réduit au zéro.

En résultat, nous nous trouvons ainsi en présence d'une hypersécrétion interne, et c'est cette hypersécrétion qui doit être considérée comme cause du développement considérable de la glande interstitielle.

C'est par cette hypersécrétion de la glande interstitielle du testicule que s'explique, à ce qu'il paraît, l'activité sexuelle exaltée des animaux irradiés établie par les expériences de Regaud et Dubreuil et qui a été constatée aussi par d'autres auteurs.

Pour conclure, je voudrais expliquer par cette théorie le résultat de l'éxpérience № 9 qui semble contredire la théorie en question.

Dans cette expérience sur un jeune chien de 4 mois, nous avons obtenu l'arrêt du développement des testicules, ainsi que de la prostate par rapport à l'expérience de contrôle, mais les canalicules, en dépit de l'irradiation intensive, ont été pourtant moins affectés que dans les expériences sur des animaux adultes.

Regaud et Dubreuil ont aussi établi que les canalicules des animaux qui n'ont pas atteint la puberté sont moins sensibles vis-à-vis de l'action des rayons x.

Il me semble que ce fait peut être expliqué de la manière suivante. On sait que plus les cellules sont actives au moment de l'irradiation, plus l'èchange de matières est vif à ce moment, plus fortement les cellules sont affectées par les rayons de Rœntgen.

A l'irradiation des testicules de jeunes animaux on obtient, à ce qu'il paraît, des rapports autres que chez des animaux adultes· Chez de jeunes animaux la glande interstitielle fonctionne manifestement d'une manière plus intensive que chez les animaux qui ont atteint la puberté. Le fait que chez de jeunes animaux la glande interstitielle occupe une partie beaucoup plus grande du testicule que chez des animaux adultes en témoigne. Pourtant chez de jeunes animaux l'appareil séminal ne fonctionne pas encore.

C'est pourquoi sous l'influence de l'irradiation par les rayons de Rœntgen on obtient, à ce qu'il paraît, une dissociation des glandes d'un

ordre inverse par rapport à ce que nous avons constaté chez des animaux adultes: la glande interstitielle qui fonctionne d'une manière plus intensive est plus affectée par l'action des rayons, ce qui a entrainé dans l'expérience № 9 l'arrêt du développement de la prostate.

Certainement la possibilité n'est pas exclue que par des doses très considérables (en tout cas non curatives) on puisse provoquer aussi chez des animaux adultes des changements dans les cellules de Leidig et ensuite des changements atrophiques dans la prostate.

VI.

Les conclusions qui découlent de mes expériences personnelles.

Il me reste de résumer brièvement les principales conclusions que l'on peut faire en se basant sur les résultats que j'ai obtenus dans mes recherches.

1. Les testicules présente un organe qui est très sensible vis-à-vis de l'action des rayons de Rœntgen.

2. L'appareil spermatogène est lesé par les rayons de Rœntgen par voie élective.

3. Le tissu interstitiel (cellules de Leidig) auquel est liée manifestement la sécrétion interne du testicule non seulement n'est pas lesé par les même doses, mais s'hypertrophie même.

4. Il est bien possible que ce sont les cellules de Sertoli qui sont lesées directement, tandis que les élements spermatogènes périssent par voie indirecte, à la suite des pertrubations provoquées dans la fonction nourricière des cellules de Sertoli (impossibilité d'élaborer des matières lipoïdes).

5. Par la rœntgenisation on peut atteindre l'atrophie complète et définitive de l'appareil spermatogène.

6. La dose de 18 à 20 x appliquée à deux reprises peut se montrer suffisante pour provoquer une atrophie de longue durée de tous les élements spermatogènes.

7. Les testicules des animaux (chiens) qui n'ont pas atteint la puberté sont moins sensibles vis-à-vis de l'action des rayons que les testicules des animaux adultes.

8. A l'atrophie de l'appareil séminal entrainée par la rœntgenisation des testicules, la prostate non seulement ne s'atrophie pas, mais dans beaucoup de cas présente un développement considérable.

9. Un tel développement de la prostate peut être expliqué par la multiplication et le développement parallèle des cellules de Leidig et par l'hypersécrétion liée à ce phénomène.

10. Par cette même hypersécrétion des cellules de Leidig s'explique aussi, à ce qu'il paraît, l'exaltation de l'instinct sexuel, qui a été constatée par plusieurs auteurs, et la conservation des caractères sexuels.

Annexe.

Dans le présent chapitre je voudrais toucher légèrement quelques questions ou-plutôt-perspectives qui se dessinent en lien avec le sujet qui nous intéresse. Mais je dois ajouter que je ne veux pas faire de conclusions cathégoriques dans cette direction.

Je veux tout d'abord toucher le problème de l'étiologie de l'hypertrophie de la prostate. Certainement, les résultats des recherches expérimentales ne sont guère concluants pour la pathologie humaine, mais il me semble que l'examen parallèle des résultats de mes recherches et des données cliniques et anatomo-pathologiques jette quelque lumière sur ce problème. Nous avons vu que sous l'influence de l'irradiation du testicule par les rayons de Rœntgen il se fait comme une dissociation de ses élements: les élements spermatogènes s'atrophient et les cellules de Leidig, auxquelles est liée la sécrétion interne du testicule, s'hypertrophient. Parallèlement se développe considérablement le parenchyme glandulaire de la prostate.

Mais qu'est ce que nous voyons à l'hypertrophie sénile de la prostate? Ainsi que le montrent les recherches les plus récentes, nous avons ici un adénome ou un adénomyome qui a pour point de départ les glandes périurétrales. En outre, nous savons que l'hypertrophie de la prostate se manifeste dans la vieillesse c. a. d. à l'âge, où l'appareil séminal subit une atrophie physiologique, lorsque la spermatogénèse disparaît peu à peu.

Griffits qui s'est occupé de l'étude des testicules des vieillards, distingue trois stades de l'atrophie. Dans le premier stade a lieu une dégénération de l'épithélium spermatogène, le tissu interstitiel ne subissant pas de changements. Dans le deuxième stade on observe une aspermatogénèse et un développement considérable du tissu interstitiel qui est très riche en cellules. Enfin il existe un troisième stade qui est caractérisé par une sclérose complète.

Le tableau correspondant au deuxième stade est manifestement analogue à ce que nous avons vu sur les préparations des testicules atrophiés par l'action des rayons de Rœntgen. Dans la vieillesse la dissociation entre l'appareil spermatogène et l'appareil de la sécrétion interne qui entraîne l'atrophie du premier et l'hypertrophie du dernier peut se faire, à ce qu'il paraît, par voie physiologique.

Involontairement se pose donc la question de savoir si l'hypertrophie de la prostate chez des vieillards ne présente pas le résultat de la dissociation des élements de la sécrétion externe et interne, — le résultat de l'hypersécrétion.

Si l'on admet cette possibilité, si l'on admet que l'hypertrophie de la prostate ou, suivant ies conceptions actuelles, l'adénome de la prostate, peut présenter la conséquence d'une hypersécrétion anormale de la glande interstitielle du testicule, il se pose la question plus importante et plus difficile, la question de savoir:

Dans quelle mesure la fonction anormale des glandes de sécrétion interne peut jouer un rôle dans l'étiologie des tumeurs en général.

La problème de l'influence des glandes de la sécrétiou interne sur la croissance des tumeurs n'est pas un problème noveau. On sait que l'activité des ovaires a une influence incontestable sur la croissance des fibromyomes de l'utérus dans lesquels on a appliqué pendant un certain temps la castration en qualité de traitement chirurgical.

Beatson (1897) a proposé la castration en cas de cancer du sein. Chez deux malades atteintes d'une récidive grave du cancer du sein il a fait cette opération et il a constaté une amélioration, il est vrai, passagère. Les glandes lymphatiques se sont diminuées chez ces malades, les infiltrations cancereuses se sont diminuées aussi, et une des malades a vécu encore 4 ans.

Le traitement proposé par Beatson a trouvé des partisans en Angleterre, ainsi qu'en France et en Allemagne. On trouve dans la littérature une série de communications concernant ce sujet (Stanley, Cheyne, Boyd, Hermann, Waterhouse, Michel, Cohen, Guinard, Revnes, Lett et d'autres).

Lett a réuni 99 cas de cancer du sein traités par la méthode de Beateson.

On ne peut pas affirmer, que le traitement a donné des résultats brillants, bien que Lett signale dans 36,4 p. 100 de cas une amélioration considérable (passagère). Des cas de guérison complète ont été aussi décrits (Cheyne). Un fait est, à ce qu'il paraît, incontestable: la fonction des ovaires agit sur la croissance des tumeurs cancereuses du sein.

On peut considérer ensuite comme incontestable l'influence de la rœntgenisation des ovaires sur les fibromyones de l'utérus, où cette méthode est appliquée avec un si grand succès au cours de derniers dix ans. En me basant sur mon expérience personnelle, je peux affirmer que dans des cas très nombreux sous l'influence de la rœntgenisation les fibromyomes de l'utérus diminuent, parfois jusqu'à la disparition complète, et cela a lieu, à ce qu'il paraît, pas tant sous l'influence de l'irradiation

directe des tumeurs, qui sont au fond très peu sensibles, mais indirectiment par l'action sur le tissu des ovaires.

Fränkel a observé en même temps avec la diminution des fibromyomes de l'utérus l'augmentation du corps thyroïde sous l'influence de la rœntgenisation.

J'observe à présent personnellement une malade chez laquelle j'ai atteint par la rœntgenisation une diminution considérable d'un fibromyome de l'utérus et la disparition de tous les symptômes liés à cette tumeur. Chez cette malade parallélement à la diminution du myome il s'est développé dans le corps thyroïde un noeud de grandeur d'une mandarine.

Enfin il existe une série de travaux qni ont pour but d'élucider l'influence des glandes de la sécrétion interne (testicules, ovaires, corps thyroïde etc.) sur la croissance des tumeurs expérimentales.

Pourtant les résultats obtenus dans cette direction ne sont pas suffisamment déterminés et sont souvent contradictoires.

Graf n'a constaté aucune influence de la castration sur la réceptivité des souris vis-à-vis de l'inoculation avec des tumeurs malignes.

Suivant Goldzieher et Rosenthal, la castration et l'introduction des extraits des glandes sexuelles n'ont pas influencé la croissance du cancer des souris.

Suivant Almagia, au contraire, la castration a géné la croissance du sarcome des souris.

Des auteurs russes (Korentchevsky, Jovlev, Slotov, Bogoslovsky) arrivent aux conclusions diamétralement opposées. Ils ont trouvé que la castration favorise la croissance du sarcome chez les chiens et les souris et du cancer chez les souris. Au contraire, l'introduction d'une émulsion de glandes sexuelles gêne la croissance des tumeurs chez les souris et les chiens.

Il existe aussi une série d'observations sur l'influence du corps thyroïde et de ses préparations sur la croissance des néoformations chez l'homme et les animaux. Ainsi Low a fait l'ablation du corps thyroïde chez des personnes atteintes du cancer et a constaté la diminution des glandes lymphatiques et l'amélioration de l'état général des malades.

Greyer, au contraire, a constaté une amélioration chez des malades atteints de cancer traités par des préparations du corps thyroïde.

Boll affirme aussi que chez les malades atteints de cancer, le corps thyroïde est atrophié.

Jones décrit une récidive grave d'un cas d'épithéliose qui a disparu complètement sous l'influence du traitement par des tablettes du corps thyroïde.

Suivant Diesing le traitement du cancer par des préparations du corps thyroïde a donné de bons résultats.

Par voie expérimentale Goldzieher et Rosenthal n'ont pu constater d'influence de la thyroïdine.

Korentchevsky, au contraire, a observé que la thyroïdine que l'on fait ingérer, gêne la croissance et contribue à la résorption des sarcomes chez les rats et abaisse la réceptivité vis-à-vis du cancer chez les souris.

Rhodenburg, Bullok et Johnston ont tâché d'élucider sur des tumeurs des souris et des rats l'influence de l'enlèvement des glandes de la sécrétion interne (du corps thyroïde, des glandes sexuelles et de la rate).

Les auteurs arrivent à la conclusion que l'enlèvement des glandes de la sécrétion interne n'a pas d'influence, à ce qu'il paraît, sur la croissance des tumeurs, mais les animaux auxquels on a enlevé ces glandes guérissent plus rapidement.

Jovlev qui a fait ses expériences au laboratoire de Korentchevsky est arrivé à d'autres résultats: 1) l'enlèvement du corps thyroïde ou des glandes sexuelles favorise la croissance des tumeurs; 2) l'enlèvement simultané du corps thyroïde et des glandes sexuelles n'a pas d'influence sur la croissance des tumeurs.

Cette courte revue nous montre combien les résultats obtenus sous ce rapport sont contradictoires et combien les observations sont peu systématiques.

Un fait est incontestable: les glandes de la sécrétion interne ont une influence sur la croissance des tumeurs. C'est surtout clair en ce qui concerne les glandes sexuelles.

Une étude systématique de ces questions aurait permis, peut être, de serrer de plus près le problème de l'étiologie des néoformations, pour la solution duquel nous n'avons d'autres données, outre plusieurs hypothèses qui souvent ne nous disent rien.

La méthode dont je me suis servi dans ce travail et les résultats que j'ai obtenus me donne un certain droit de la proposer pour l'étude ultérieure systématique du problème qui nous intéresse.

Par la rœntgenisation, ainsi que nous l'a montré du moins l'exemple des testicules, nous pouvons changer au point de vue quantitatif la fonction des élements de la sécrétion interne. Peut-être, en soumettant à la rœntgenisation aussi d'autres glandes de la sécrétion interne, on pourra obtenir des résultats analogues.

En soumettant à la rœntgenisation différentes glandes de la sécrétion interne, en étudiant les changements qui ont lieu dans leurs élements spécifiques et en examinant parallèlemeut les changements qui ont lieu dans les glandes et tissus liés aux glandes irradiées, on pourra peut-être jetter quelque lumière sur l'étiologie des néoformations.

Je me propose aussi d'élucider l'action des émulsions et des extraits des testicules rœntgenisés sur l'organisme animal.

Nous avons vu que sous l'influence de l'irradiation les élements spermatogènes disparaissent, et la glande interstitielle, l'organe de la sécrétion interne, se développe considérablement. C'est pourquoi les émulsions et les extraits de tels testicules rœntgénisés doivent contenir, à ce qu'il paraît, des produits de sécrétion interne relativement concentrés.

Ces recherches permettront donc peut-être d'élucider d'une manière plus détaillée la fonction des cellules de Leidig.

En terminant ce travail il m'est un devoir agréable d'exprimer les sentiments de ma profonde gratitude aux personnes suivantes.

A mon cher maître, le professeur A. Kadian pour l'appui moral et les conseils que j'ai rencontrés de sa part en général et au cours de ce travail en particulier.

A M. le Docteur A. Selinov pour ses conseils précieux, pour l'examen de mes préparations et pour l'hospitalité que j'ai rencontrée dans son laboratoire.

A M. le Docteur A. Soloviev pour avoir mis gracieusement à ma disposition le cabinet clinique.

A mes collègues M-lles Jouriev, Strougatch et Troitzky pour m'avoir aidé au cours de ce travail.

A mon cher collègue le Docteur M-lle Lissovsky pour avoir fait les dessins colorés de mes préparations.

Explication des figures.

Planche I.

Fig. 1. Testicule normale d'un chien adulte. On voit sur la préparation deux canalicules coupés transversalement et un longitudinalement. Les noyaux de Sertoli se trouvent près de la paroi et sont un peu aplatis. Les canalicules renferment un très grande quantité de cellules spermatogènes de toutes les générations. Beaucoup de mitoses. Une grande quantité de spermatozoïdes ayant principalement une position centrale. Entre les canalicules il y a des espaces lymphatiques, des fibres de tissu conjonctif et une quantité peu considérable de cellules à noyaux ronds (cellules de Leidig). Zeiss. Ob. C., Oc. 4.

Cette preparation, ainsi que les autres préparations qui sont réproduites ici, sont fixées dans le mélange trïacide de Fleming et colorées par la *Safranine* et le *Lichtgrün*.

Fig. 2. Testicule du chien № 1 101 jours après la première irradiation. On voit un canalicule coupé longitudinalement et deux canalicules coupés presque transversalement (légèrement obliquement).

Dans les canalicules ne se sont conservées que les cellules de Sertoli avec leurs appendices protoplasmiques bien visibles. La *membrana propria* est légèrement ridée. Les espaces entre les canalicules sont presque partout remplis par des cellules de Leidig et par une quantité de gouttes de matières lipoïdes colorées en noir. A l'intérieur des canalicules il n'y a pas de gouttes semblables. Grossissement comme sur la fig. 1.

Fig. 3. Prostate d'un chien adulte normale, dont le testicule est représenté sur la fig. 1. Les tubes sont peu ramifiés et, en majeure partie, entourés de tissu conjonctif et musculaire.

Fig. 4. Prostate du chien № 1 au même grossissement que sur la fig. 3. Parenchyme glandulaire très bien développé. Les tubes sont étroitement serrés les uns contre les autres et fortement ramifiés.

Fig. 5, 6 et 7. Parties des tubes de la prostate du chien № 3 76 jours après la première irradiation. Dans les testicules les élements spermatogènes font complètement défaut.

Mitose (différents stades). Zeiss, immersion, Oc. II.

Planche II.

Fig. 1. Microphotographie de la préparation du testicule cryptorchide du chien № 12. On voit des canalicules coupés transversalement et obliquement (un canalicule est coupé presque à la tangente).

Dans les canalicules il n'y a que des cellules de Sertoli. Presque dans chaque cellule de Sertoli il y a une goutte de matières lipoïdes (points noirs). En dehors des canalicules il y a peu de gouttes semblables. Dans les espaces entre les canalicules il y a une quantité modérée de cellules de Leidig. Photogr. à un grossissement de 480 fois.

Fig. 2. Microphotographie du testicule du chien № 9 dont les testicules ont été irradiés durant 7 mois à partir de l'âge de 4 mois.

Les canalicules sont très étroits. Se sont concervées les cellules de Sertoli dans le protoplasme desquelles il y a beaucoup de vacuoles et de petites gouttes de matières lipoïdes dispersées sans ordre. Tout l'espace entre les canalicules est occupé par le tissu interstitiel avec une grande quantité de matières lipoïdes colorées par l'acide osmique. Photogr. à un grossissement de 480 fois.

Fig. 3. Microphot. du testicule du chien № 3. Dans les canalicules ne se sont conservées que les cellules de Sertoli. A l'intérieur des canalicules il n'y a pas de gouttes de matières lipoïdes, tandis qu'il y en a beaucoup

en dehors des canalicules. L'espace entre les canalicules est rempli par le tissu interstitiel avec une grande quantité de cellules de Leidig. Photograph. à un grossissement de 480 fois.

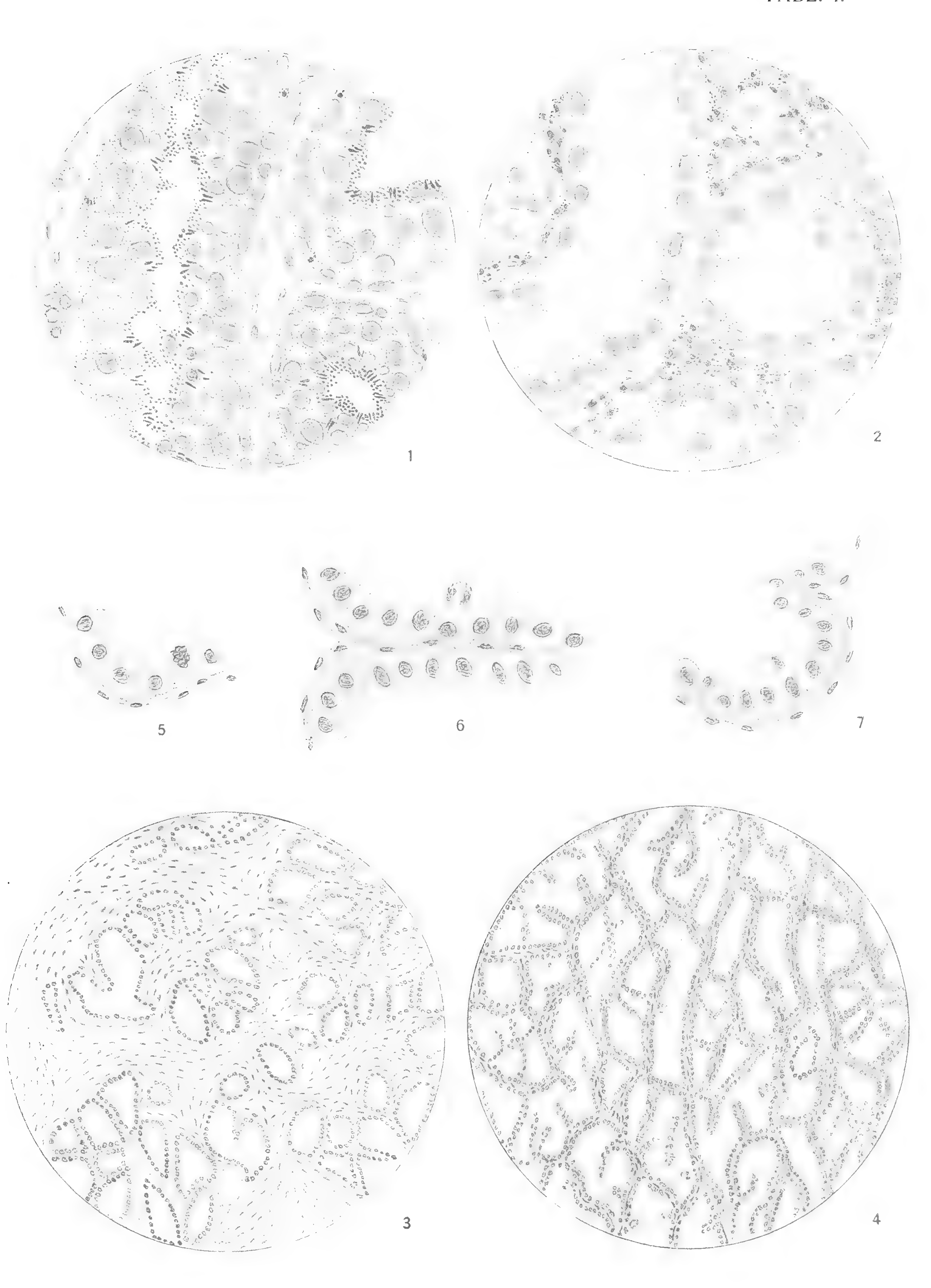
Fig. 4. Microphotograph. de la prostate du chien № 3. Développement extraordinairement considérable du parenchyme glandulaire. Photogr. à un grossissement de 135 fois.

Fig. 5. Microphotogr. du testicule du chien № 6 462 jours après la première et 253 jours après la dernière irradiation. Les élements spermatogènes dans les canalicules font complétement défaut. Il n'y a pas de gouttes de matières lipoïdes à l'intérieur des canalicules. Daus le tissu interstitiel qui remplit tous les espaces entre les canalicules il y a une très grande quantité de cellules de Leidig. Photogr. à un grossissement de 480 fois.

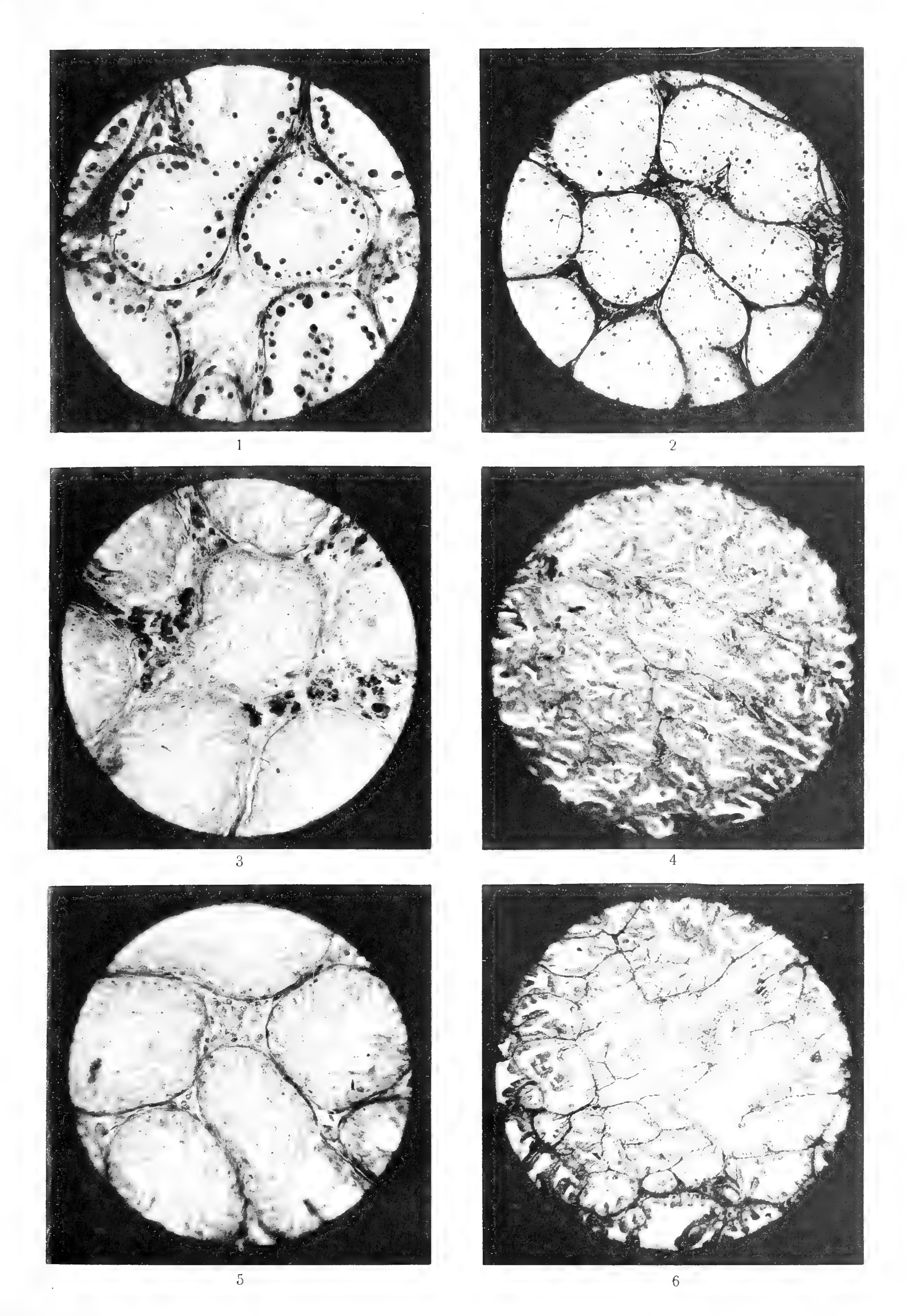
Fig. 6. Microphotogr. de la prostate du chien № 6. Développement très considérable du parenchyme, tubes dilatés par la sécrétion. Photogr. à un grossissement de 135 fois.

Index bibliographique.

1. **A**lbers-Schönberg, Ueber eine bisher unbekannte Wirkung der Röntgenstrahlen auf den Organismus der Tiere. *München. med. Wochenschrift,* 1903, № 43.
2. Athanasow, Recherches hystologiques sur l'artrophie de la prostate consécutive à la castration, à la vasectomie et à l'injection sclérogène. *Journ. de l'Anatomie et de la Physiol.*, 98 ann.
3. v. **B**ardeleben, Beiträge zur Histologie des Hodens und zur Spermatogenese b. Menschen. *Archiv für Anatomie und Physiologie,* 1897, Supplementband.
4. Battey, Normal ovariotomie. *Atlanta Georgia,* 1873.
5. Bazy, Escat, Chauillos, De la castration dans l'hyperthrophie de la prostate. *Arch. des sciences medicaux,* 1896, № 5 et 6, 1897, № 1.
6. Beatson, *Lancet,* 1896, 11 et 18 VII.
7. Beissner, Die Zwischensubstanz des Hodens und ihre Bedeutung. *Arch. für mikroskop. Anatomie und Entwicklungsgeschichte,* Bd. 51.
8. Berezkine. A la casuistique du traitement de l'hypertrophie de la prostate par la castration et la ligature du cordon spermatique (en russe). *Meditzinskoïé Obozrénié,* t. XLV, № 1.
9. Bergonié et Tribondeau, Action des rayons X sur le testicule du rat blanc. *Comptes rendus de la société de biologie,* 8 XI 1904, 6 XII 1904, 17 I 1905, 27 I 1905.



Med. Dr. S. Lissowskaja pinxit.



1 2 3 4 5 6

10. Les mêmes, Aspermatogénèse expérimentale après une seule exposition aux rayons X. *Ibid.* 7 II 1905.

11. Les mêmes, L'aspermatogénèse expérimentale complète obtenue par les rayons X est-elle définitive. *Ibid.* 14 IV 1905.

12. Les mêmes, Lésions du testicule obtenues avec des doses croissantes des rayons X. *Ibid.* 6 VI 1905, pag. 1029.

13. Les mêmes, Experimentelle Studien über die Einwirkung der Röntgenstrahlen auf die Hoden. *Arch. d'électr. méd.*, XIV Jahrg., № 200. Ref.: *Fortschritte auf d. Gebiete der Röntgenstrahlen,* Bd. X, H. 6.

14. Les mêmes, Einwirkung der Röntgenstrahlen auf die Hoden der Ratten. *Ibid.* XIV Jahrg., № 201. Ref.: *Ibid.*

15. Les mêmes, Wirkung der X-Strahlen auf die Hoden. *Arch. d'électr. méd.*, 1907, № 205. Ref.: *Fortschr. auf d. Geb. d. Röntgenstr.*, Bd. XI, H. 1.

16. Les mêmes, Consequences théoretiques et practiques de l'action des rayons X sur les glandes génitales. Congrès de l'association française pour l'avancement des sciences. *Clermont-Ferront, août 1908 et Arch. d'électr. méd.,* 10 VIII 1908.

17. Besançon, Étude sur l'ectopie testiculaire du jeune âge et son tractement. *Thèse de Paris,* 1892.

18. Biedl, Innere Sekretion, ihre physiologischen Grundlagen und ihre Bedeutung für die Pathologie. 2-te Auflage 1913. Berlin—Wien.

19. Billharz, Die Genitalorgane schwarzer Eunuchen. *Zeitschr. f. wissenschaftl. Zoologie.*, Bd. 10, 1860, p. 287, 4 (Prostata).

20. Boll, Beiträge zur mikroskop. Anatomie der acinösen Drüsen. 1869.

21. Le même, Untersuchungen über den Bau und die Entwicklung d. Gewebe. *Arch. für mikroskop. Anatomie und Entwicklungsgeschichte,* Bd. 7.

22. Böhm und Davidoff, Lehrbuch der Histologie des Menschen. Wiesbaden, 1895.

23. Bruns, Ueber den gegenwärtigen Stand der Radikalbehandlung der Prostatahyperthrophie insbesondere mittels Kastration. *Mitteilungen aus dem Grenzgebiete der Med. u. Chor.*, Bd. I, H. I, 1895.

24. Buschke und Schmidt, Ueber die Wirkung der Röntgenstrahlen auf Drüsen. *V. Internat. Dermatolog. Kongress,* Berlin, 1904, II, S. 456 u. *Deutsche med. Wochenschr.*, 1905, № 13.

25. Buschke, Demonstration von Praeparaten betreffend die Wirkungsweise der Röntgenstrahlen auf den Kaninchenhoden. *Berlin. med. Gesellsch.* 18 I. 1905.

26. Bouin, L'infantilisme et la glande interstitielle du testicule. *Comptes rendus de l'academie des sciences,* I 1904.

27. Bouin et Ancel, Sur les cellules interstitielles de testicule des mammifères et leur signification. *Comptes rendus de la société de biologie,* 14 nov. 1903.

28. Les mêmes, Sur la signification de la glande interstitielle du testicule embryonnaire. *Ibid.*, 19 déc. 1903.

29. Les mêmes, Recherches sur les cellules interstitielles du testicule chez les mammifères. *Arch. de Zoologie exper. et gén.*, Vol. I, 1903.

30. Les mêmes, La glande interstitielle chez les vieillards, les animaux âges et des infantiles expérimentaux. *Ibid.*, 13 II 1904.

31. Les mêmes, Sur les variations, dans le développements du tractus génital chez les animaux cryptorchides et leur cause. *Bibl. anat.,* t. XIII, fasc. 2, 1904.

32. Les mêmes, Sur l'hypertrophie compensatrice de la glande interstitielle du testicule. *Comptes rendus de la société de biologie*, 56, 1904, p. 97.

33. Les mêmes, Sur le déterminisme des caractères sexuels secondaires et de l'instinct sexuel. *Ibid.*, 1904, p. 335.

34. Les mêmes, La glande interstitielle a seul, dans le testicule, une action générale sur l'organisme. *Comptes rendus de l'academie des sciences*, Jan. 1904.

35. Les mêmes, Recherches sur la signification physiologique de la glande interstitielle du testicule chez les mammifères. *Journal de Physiologie et de Pathologie général*, 6, 1904.

36. Les mêmes, La glande interstitielle du testicule et la défeuse de l'organisme. Hypertrophie ou atrophie partielle de la glande interst. au cours de certaines maladies chez l'homme. *Comptes rendus de société de biologie* 57, 1905, p. 553.

37. Les mêmes, Hypertrophie ou atrophie partielle de la glande interst. dans certains conditions expérimentales. *Ibid.* 554.

38. Les mêmes, Sur l'effet des injections de l'extrait de glande interstitielle du testicule sur le croissance. *Ibid.* 61, 1906.

39. **C**ahen, Ueber die Bedeutung der Kastration in der Behandlung des Mammacarcinoms. *Deutsche Zeitschrift für Chirurgie*, 1909, Bd. 99.

40. Casper, Experimentelle Untersuchungen über die Prostata mit Rücksicht auf die modernen Behandlungsmethoden der Prostatahypertrophie. *Berliner klin. Wochenschr.*, 1897, № 27.

41. Cheyne, Реф. *München. med. Wochenschr.,* 1908, № 49, стр. 2562.

42. Civiale, Traité pratique des maladies des organes genito-urinaires, t. II, p. 338.

43. Czerny, Ueber die Kastration bei Prostatahypertrophie. *Deutsche Med. Wochenschrift*, 1896, № 16.

44. **D**erujinsky, La castration et la ligature art. iliacae int. parmi les autres méthodes de traitement radical de l'hypertrophie de la prostate (en russe). *Thèse,* Moscou, 1896.

45. Disselhorst, Ausführapparat und Anhangsdrüsen der männlichen Geschlechtsorgane. *Oppel, Lehrbuch der vergleichenden mikroskopischen Anatomie der Wirbeltiere,* IV Teil, Jena, 1904.

46. Diesing, Die Wirkung von Schilddrüsenextr. auf Magen-Darmkrebse. *Mediz. Klinik,* 1911, p. 458.
47. Dürck, Atrophie und Hypoplasie der Hoden. *München. Aerztever.* Ref.: *Münch. med. Wochenschr.,* 1907.
48. v. Ebner, Untersuchungen über den Bau der Samenkanälchen u. s. w. *Untersuchungen aus d. Institut für Physiologie und Histologie in Graz,* 2. Heft, 1871.
49. Le même, Zur Spermatogenese bei den Säugetieren. *Arch. für mikroskop. Anatomie und Entwicklungsgesch.,* Bd. 31.
50. Ehrmann, Beitrag zur Kasuistik der Hodenbestrahlung bei Prostatahypertrophie. *München. med. Wochenschrift,* 1912, № 13.
51. English, Ueber die neue Behandlungsmethode der Prostatahypertrophie. *Wiener klinische Wochenschrift,* 1897, № 42.
52. Ewan, Mac, Die operative Behandlung der Prostatahypertrophie. *Wiener medic. Presse,* 1896.
53. Flerent, Ein Beitrag zur Kenntniss der Resultate der Behandlung der Prostatahypertrophie mit Resect. vas. def. *Dissertation,* Strassburg, 1898. Ref. *Zentrlbl. f. Chir.,* 1898.
54. Floderus, Klinische Beiträge zur Kenntniss des Zusammenhanges zwischen Prostata und Testes. *Zeitschrift f. Chirurg.,* 1897, Heft 1—2.
55. Frieben, Hodenveränderungen bei Tieren nach Röntgenbestrahluug. *Münch. med. Wochenschr..* 1903, № 52.
56. Fränkel, Die Erkrankungen der weiblichen Genitales. 1912, Bd. I, p. 683.
57. Fraenkel, M., Die Röntgenstrahlen in der Gynäkologie mit einem Ausblick auf ihren künftigen Wert für soziale und sexuelle Fragen. Berlin, 1911.
58. Friedmann, Beiträge zur Kenntniss der Anatomie und Physiologie der männlichen Geschlechtsorgane. *Archiv für mikroskopische Anatomie und Entwicklungsgeschichte,* Bd. 52.
59. Fürbringer, Die Störungen der Geschlechtsfunctionen des Mannes. *Nothnagels Handbuch,* Bd. 19, 3. Teil.
60. Godard, Egypte et Palestine. *Observations medical. et scientifiques,* Paris, 1867, p. 130.
61. Guérrat, La castration à l'hypertrophie de la prostate (en russe). *Khirourguitheskaïa letopis,* 1895.
62. Goldmann, Die äussere und innere Sekretion des gesunden Organismus im Lichte der vitalen Färbung. *Verhandlungen der Deutschen patholog. Gesellschaft,* 14, p. 138, 1916.
63. Goldschmidt, Kritische Bemerkungen zur Behandlung der Prostatahypertrophie mittels der Castration. *Berliner klinische Wochenschrift,* 1896, № 15.
64. Grinenko, A la question de l'ablation complète de la prostate à l'hypertrophie de cet organe. *Thèse,* Peterbourg, 1913.

65. Gruber, W., Untersuchungen einiger Organe eines Kastraten. *Archiv für Anatomie, Physiologie und Wissenschaftliche Medicin*, 1847, pag. 463.
66. Guyon et Legueu, De la résection bilaterale des canaux déférents et de son influence sur l'etat de la prostate. *France méd.*, 1895.
67. Hansemann, Ueber die sogen. Zwischenzellen des Hodens und deren Bedeutung bei path. Veränderungen. *Virchow's Archiv*, Bd. 142, 1895.
68. Harwey, Ueber die Zwischensubstanz der Hoden. *Centralblatt für d. med. Wissensch.*, № 30, 1875.
69. Henle, Handbuch der systematischen Anatomie, Bd. 2,
70. Hermann, Die postphötale Histogenese des Hodens der Maus bis zur Pubertät. *Arch. für mikroskop. Anatomie und Entwicklungsgesch.*, Bd. 34.
71. Hermann, *Brit. med. journ.* 20 X 1900 и 19 X 1901.
72. Helferich, Ueber die Resection der Samenleiter, als ein Heilmittel bei Prostatahypertrophie. *Deutsche medic. Wochenschr.*, 1896.
73. Herxheimer und Hoffmann, Ueber die anatomischen Wirkungen der Röntgenstrahlen auf den Hoden. *Deutsche med. Wochenschr.*, 1908, № 36.
74. Hida und Kuga, Einfluss der Röntgenstrahlen auf den Hoden des Kaninchens und Hahns. *Fortschritte auf d. Gebiete d. Röntgenstr.*, Bd. XVII, H 2.
75. Hock, *Verhandlungen des Kongresses der Deutschen Gesellschaft für Urologie*, 1907.
76. Le même, Zur Aethiologie der Prostatahypertrophie und ihrer Behandlung mit Röntgenbestrahlung der Hoden. *München. med. Wochenschr.*, 1911, № 48.
77. Hoffmann, Ueber den Einfluss der Röntgenstrahlen auf den Kaninchenhoden. *Inaug.-Dissertation*, Bonn, 1908.
78. Hofmeister, Untersuchungen über die Zwischensubstanz im Hoden der Säugetiere. *Sitzung der math.-naturwissensch. Klasse d. K. Akademie der Wissensch.*, Bd. 65, Abt. 3, Wien, 1872.
79. Isnardi, Heilung der Hypertrophie der Prostata mittels Durchschneidung und Ligatur des Samenstranges. *Centralblatt f. Chirurg.*, 1895 г., № 28.
80. Jovlev, Influence de la sécrétion interne des glandes sexuelles et du corps thyroïde sur la croissance des tumeurs expérimentales (en russe). *Travaux du premier congrès russe pour la lutte contre le cancer*, Petrograd, 1915, p. 59.
81. Jones, Thyroid extract in carcinoma. *Brit. Medic. Journal*, 1911, т. I, стр. 432.
82. Karlovitch, Sur l'influence de la castration sur la prostate. Recherches expérimentales (en russe). Varsovie, 1898.
83. Kölliker, Mikroskopische Anatomie oder Gewebelehre des Menschen, Bd. 2, Leipzig, 1854.
84. Korentchevsky, L'influence de l'enlévement de certaines glandes à sécrétion interne sur la croissance du sarcome chez le chien (en russe). *Roussky Vratch*, 1913, № 18.

85. Le même, Prédisposition générale de l'organisme à la croissance des néoformations malignes (en russe). *Travaux du premier congrés russe pour la lutte contre le cancer,* Petrograd, 1915, p. 51.

86. Kyrle, Ueber Strukturanomalien im menschlichen Hodenparenchym. *Verhandlungen der Deutschen pathologischen Gesellschaft,* Bd. 13, 1909, pag. 391.

87. Le même, Ueber experimentelle Hodenatrophie. *Ibid.,* Bd. 14, 1910, pag. 240.

88. Le même, Ueber Entwickelungsstörungen der männlichen Keimdrüsen im Jugendalter. *Wiener klin. Wochenschr.,* 1910, pag. 1583.

89. Launois, De l'atrophie de la prostata de la castration, dans l'hypertrophie de la prostate. Etude embryologique, tératologique, anatomique, clinique et experimentale. *Ann. des maladies des org. genit.-urin.,* 1894, Okt.

90. Legueu, *Semaine medicale,* 1895, № 52.

91. Lesine, Sur les changements de la prostate chez des animaux castrés (en russe). *Meditzinskoïe Obozrénié,* 1895, p. 896.

92. Le même, Sur les changements anatomiques de la prostate qui apparaissent après la castration. (en russe) *Thèse,* Moscou, 1897.

93. v. Leidig, Zur Anatomie der männlichen Geschlechtsorgane und Analdrüsen der Säugetiere. *Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie,* Bd. 2.

94. v. Lenhossék, Beiträge zur Kenntniss der Zwischenzellen des Hodens. *Archiv für Anatomie und Physiologie,* 1897.

95. Le même, Ueber Spermatogenese bei Säugetieren. *Mitteilungen aus d. anat. Instit. zu Tübingen,* 1897.

96. Lennander, Zur Frage der sexuellen Operationen bei Prostatahypertrophie. *Zentralblatt für Chirurgie,* 1897, № 22.

97. Lett, 99 Fälle von inoperablem Brustkrebs, die mit Oophorektomie behandelt wurden. *Lancet,* Jan. 1905, *Ref. Münch. med. Woch.,* 1905, № 18.

98. Lissauer, Ueber Prostatahypertrophie. *Med. Klinik,* 1912, № 10.

99. London, Weitere Untersuchungen über Radiumwirkung. *Berliner Klinische Wochenschr.,* 1905, № 42 и *Le Radium,* 1905, Vol. II.

100. Ludwig und Tomsa, Die Lymphwege des Hodens. *Sitzungsbericht der math.-naturw. Klasse der K. Akademie der Wissensch.,* Bd. 46, Wien, 1862.

101. Mazzetti, I caratteri sessuali secondari e le cellule interstiziali del testicolo. *Anatomischer Anzeiger,* 38, p. 361, 1911.

102. Messing, W., Anatomische Untersuchungen über den Testikel der Säugethiere. *Dissertation,* Dorpat, 1877.

103. Michels, Die Kastration bei Mammacarcinom. *Münch. mediz. Wochenschr.,* 1905, № 24, pag. 1126.

104. Michalkowicz, Beiträge z. Anatomie und Histologie des Hodens. *Arb. aus d. physiol. Anst. zu Leipzig,* 1874.

105. Le même. *Berichte der math.-phys. Klasse der K. sächs. Gesellschaft der Wiss.,* 1873.

106. Mosselman et Rubay, Cryptorchidie et spermatogénése chez le cheval. *Ann. de méd. vétér.*, Bruxelles, 1902.
107. Nagel, Ueber die Entwicklung des Urogenitalsystems beim Menschen. *Arch. für mikroskopische Anatomie und Entwicklungsgeschichte,* Bd. 34.
108. Nemenow, Sur le traitement des fibromyomes et des hémorragies utérine par les rayons de Rœntgen (en russe). *Roussky Vratch,* 1912, №№ 16 17.
109. Le même, Beitrag zur Röntgenbehandluug in der Gynäkologie. *Fortschritte auf dem Gebiete der Röntgenstrahlen,* Bd. XX, Heft 3.
110. Le même, A la qnestion de l'action biologique des rayons de Rœntgen (en russe). *Roussky Vratch,* 1916.
111. Nussbaum, Von der Bedeutung der Hodensubstanz. *Arch. für mikroskop. Anatomie und Entwicklungsgeschichte,* Bd. 18.
112. Obolensky, Hodenveränderungen nach Durchschneidung des nervus spermaticus internus. *Zentralblatt für medizin. Wissenschaften,* 1867, p. 497.
113. Omeltchenko, La spermatogénèse et sa base biologique (en russe). Petersbourg, 1898.
114. Oudin, Barthélemy et Darier, Ueber Veraenderungen an der Haut und den Eingeweiden nach Durchleuchtung mit X-Strahlen. *Internationaler Med. Kongress zu Moskau. Monatschrift für prakt. Dermatologie,* 1897, № 9.
115. Pavone, La recisione del vasi deferenti in sostituzione alla castrazione nell' ipertrofia della prostata. *Policlinico,* 1895, № 11.
116. Pankratiev, Sur l'influence de la résection bilatérale du vas déferent sur la prostate et sa signification clinique à l'hypertrophie de la prostate (en russe). *Thèse,* Petersbourg, 1900.
117. Pelikan, Reeherches medico-lègales sur la secte des castrats et données historiques. Petersbourg, 1872.
118. Philipp, Die Röntgenbestrahlung der Hoden des Mannes. *Fortschritte auf dem Gebiete der Röntgenstrahlen,* Bd. VIII, p. 114.
119. Plato, Die interstitiellen Zellen der Hoden und ihre physiologische Bedeutung. *Archiv für mikroskop. Anatomie,* Bd. 48, 1896.
120. Le même, Zur Kenntnis der Anatomie und Physiologie der Geschlechtsorgane. *Ibid.*, Bd. 50, 1897.
121. Przevalsky, Sur le traitement chirurgicale de l'hypertrophie de la prostate (en russe). *Vratch,* 1895, №№ 41 et 43.
122. Ramm, Hypertrophia prostatae behandelt mit Kastration. *Zentralblatt f. Chir.*, 1893, № 35.
123. Regaud, Cl., Glandules à sécrétion interne juxtaepididymoires chez le lapin. *Comptes rendus de la Société de Biologie,* 1879.
124. Le même, Etude sur la structure des tubes séminifères et sur la spermatogenèse chez les mammifères. *Arch. d'Anatomie microscop.*, IV, fasc. 2, 3, 1901.

125. Le même, Particularité d'action des rayon de Röntgen sur l'épithélium séminal du chat. *Comptes rendus de la Société de Biologie,* 68, p. 541, 1910.

126. Le même, Sur la fasciculation des spermies en voie de développement et la retraction de leurs faisceaux vers les noyaux de Sertolo. *Ibid.,* 17 XI 1906, p. 431.

127. Le même, Action de la radiothérapie sur les testicules. *Lyon société méd. des hôpitaux,* 14 I 1908. Ref., *La presse méd.,* № 10, 1908.

128. Le même, *Comptes rendus de la société de biologie,* 1913.

129. Regaud et Blanc, Action tératogèn des rayon X sur les cellules séminales. *Comptes rendus de la société de biologie,* 28 VII 1906.

130. Les mêmes, Action des rayon X sur les diverses générations de la lignée spermatique. Extrême sensibilité des spermatogonies à ses rayons. *Ibid.,* 1906, p. 163.

131. Les mêmes, Effets généraux produits par les rayon de Röntgen sur les cellules vivantes d'après les résultats observés jusqu'à présent dans l'épithélium séminal. *Ibid.,* 1906, p. 731.

132. Les mêmes, Action des rayon de Röntgen sur les éléments de l'épithélium séminal. *Société de biologie de Paris,* 29 XII 1906. Ref. *La presse méd.,* 1907, № 1.

133. Les mêmes, Action des rayons X sur la spermatogénèse du rat blanc et consideration génér. sur cette action. *Association française pour l'avancement des sciences,* Lyon, 2—9 août 1906.

134. Regaud et Dubreuil, Action des rayons de Röntgen sur la testicule du lapin. *Comptes rendus de la société de biologie,* 63, 1907, p. 647.

135. Les mêmes, Influence de la röntgénisation des testicules sur la structure de l'épithélium séminal et des epididym, sur la fécondité et sur la puissance virile du lapin. *Lyon méd.,* 1908, № 9.

136. Regaud et Nogier, Stérilisation définitive des testicules du rat par les rayon X filtrés. *Académie des sciences,* 27 XII 1909. Ref. *La presse méd.,* 1910, № 4.

137. Les mêmes, Sur le sterilisation du testicule du chat par les rayons X. Conditions techniques de sa réalisation. *Comptes rendus de la société de biologie,* 7 I 1911.

138. Regaud et Policard, Etude comparative du testicule du pore normal impubère et ectopique au point de vue des cellules interstitielles. *Comptes rendus de la société de biologie,* 53, 1901, p. 450.

139. Reinke, Beitrag zur Histologie des Menschen. *Arch. f. mikroskop. Anatomie und Entwicklungsgeschichte,* Bd. 47.

140. Reprev, L'influence de l'enlèvement des glandes sexuelle sur l'activité vitale (en russe). *Vratch,* 1890, p. 228.

141. Sackur, Kritisch experimentelle Beiträge zur modernen Behandlung der Prostatahypertrophie. *Therapeutische Monatshefte*, 1896, p. 480.

142. Sasaki, Ueber die experimentelle Prostataatrophie durch Röntgenbestrahlung der Hoden. *Deutsche Zeitschrift für Chirurgie*, Bd. 122, 1913, pag. 290.

143. Schmaltz, Die Geschlechtsorgane. *Ellenberger*, *Handbuch der vergleichenden mikroskopischen Anatomie der Haustiere*, II. Band, p. 280.

144. Scholz und Seldin, *Deutsche med. Wochenschr.*, 1904, № 25.

145. Simmonds, Ueber die Einwirkung von Röntgenstrahlen auf die Hoden. *Fortschritte auf dem Gebiete der Röntgenstr.*, Bd. XIV (1909—1910), p. 229.

146. Simonovitch, Sur les changements anatomo-pathologiques des glandes sexuelles à l'inanition complète et non complète chez des animaux (en russe). *Thèse*, Petersbourg, 1896.

147. Socin, Ueber die Bedeutung der Castration für die Behandlung der Prostatahypertrophie. *Correspondenzblatt für die Schweizer Aerzte*, 1896, № 17.

148. Sovetov, Matériaux sur la question des castrats (en russe). *Thèse*, Moscou, 1894.

149. Spijarny, A la casuistique du traitement de l'hypertrophhie de la prostate par la castration (en russe). *Meditzinskoïé obozrénié*, 1894, № 20.

150. Stieda, Die Leydigsche Zwischensubstanz des Hodens. Eine historische Notiz. *Arch. für mikroskop. Anat. und Entwicklungsgeschichte*, Bd. 48.

151. Thaler, Ueber die feineren Veränderungen im Hodengewebe der Ratte nach Einwirkung der Radiumstrahlen. *Jahresbericht aus der II chirurg. Klinik zu Wien*, 1906.

152. Онъ же, Feinere Veränderungen im Hodengewebe der Ratte nach Einwirkung der Radiumstrahlen. *Zeitschrift f. Chirurgie*, Bd. 89, № 4—6.

153. Tappeiner, Beitrag zur Behandlung der Prostatahypertrophie durch Röntgenbestrahlung der Hoden. *Deutsche Zeitschrift für Chirurgie*, 1912, Bd. 115.

154. Thomson, *Brit. med. journ.*, 8 XI 1902.

155. Villemin, Sur la régénération de la glande séminale après distructions par les rayons X. *Arch. d'électr. méd.*, 1906, p. 392 et *Comptes rendus de la sociéte de biologie*, 23 VI 1906, p. 1076.

156. Онъ же, Rayons X et activité génitale. *Academie des Sciences*, 19 III 1907.

157. Vincent, S., Innere Sekretion und Drüsen ohne Ausführungsgang. *Ergebnisse der Physiologie*, IX 1910 и XI 1911.

158. Wagner, Sur les altérations des testicules chez des tuberculeux (en russe). *Vratch*, 1889, № 43.

159. Woïnov, Sur les altération des glandes à la scarlatine, à la diphtérie, au typhus exanthématique et à la pneumonie membraneuse (en russe). *Thèse*, Petersbourg, 1896.

160. Waldeyer, Ueber Bindegewebszellen. *Archiv für mikroskopische Anatomie und Entwicklungsgeschichte,* Bd. 11.
161. Le même, Die Entwicklung der Carcinome. *Virchow's Archiv,* Bd. 55.
162. Le même, *Sitzungsberichte der Berliner Akademie,* Sitzung vom 11. Juli 1895.
163. Walker, Experimental injection of testicular fluid. *John Hopkins Hosp. Bull.,* 11, 1900.
164. Le même, The influence of the testis upon the secondary sexual characters of fowes. *Proc. Roy, Soc. med.,* 1908.
165. White, The present position of the Surgery of the hypertrophied prostate. *Annals of Surgery,* August 1893 (стр. 153), Vol. XVII, par. 8.
166. Le même, Kastration for hypertrophy of the prostate. *Brit. med. journ.,* 1894, june.
167. Le même, La castration pour l'hypertrophie de la prostate. *L'Union méd.,* 1894, № 74.
168. Wilms und Posner, Zur Aethiologie der Prostatahypertrophie und ihrer Behandlung mit Röntgenbestrahlung der Hoden. *München. mediz. Wochenschrift,* 1911, № 36.
169. Wossidlo, Der heutige Standpunkt der Frage der Kastration bei Prostatahypertrophie. *Zentralbl. f. H. u. G.-organe,* Bd. V, Heft 9.
170. Zindel, Experimentelle Untersuchungen über den Einfluss der Hodenbestrahlung auf die Prostata. *Zeitschrift für urologische Chirurgie,* 1913, pag. 75.



